

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI



Fakulta textilní

**MONITOROVÁNÍ VNITŘNÍ STRUKTURY NANOVLÁKENNÝCH
VRSTEV POMOCÍ OBRAZOVÉ ANALÝZY**

Diplomová práce

Michaela Řičicová

Liberec 2013



MONITOROVÁNÍ VNITŘNÍ STRUKTURY NANOVLÁKENNÝCH VRSTEV POMOCÍ OBRAZOVÉ ANALÝZY

MONITORING OF NANOFIBER LAYER STRUCTURE WITH THE AID OF IMAGE ANALYSIS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

STUDIJNÍ PROGRAM: PRŮMYSLOVÝ MANAGEMENT

STUDIJNÍ OBOR: MANAGEMENT JAKOSTI

Autor práce
Vedoucí práce
Konzultant práce

Bc. Michaela Řičicová
doc. Ing. Maroš Tunák, Ph.D.
Mgr. Jana Voříšková Horáková

POČET STRAN TEXTU.....	127
POČET OBRÁZKŮ.....	94
POČET TABULEK.....	14
POČET PŘÍLOH.....	7

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI

Fakulta textilní

Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Michaela Řiřicová**
Osobní číslo: **T11000152**
Studijní program: **N3108 Průmyslový management**
Studijní obor: **Management jakosti**
Název tématu: **Monitorování vnitřní struktury nanovláknenných vrstev pomocí
obrazové analýzy**
Zadávající katedra: **Katedra hodnocení textilií**

Zásady pro vypracování:

- (1) Vypracujte rešerši týkající se hodnocení vláknenných vrstev pomocí obrazové analýzy.
- (2) Navrhněte posloupnost kroků pro odhad kvantitativních charakteristik z obrazů nanovláknenných vrstev pomocí nástrojů obrazové analýzy.
- (3) Vytvořte algoritmus navrženého postupu v Matlabu a popište sled kroků v programu ImageJ.
- (4) Připravte vzorky pro elektronovou mikroskopii a aplikujte zkoumaný postup na obrazech nanovláknenných vrstev získaných elektrostatických zvlákňováním. Sledujte změny parametrů struktury dle složení zvlákňovacího roztoku.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy: 50 - 60 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- [1] GONZALES R.C., WOODS R.E. Digital Image Processing. 2nd edition, Prentice-Hall, 2002.
- [2] FERREIRA T., RASBAND W. ImageJ User Guide. 2012.
<http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>
- [3] RAMAKRISHNA S., FUJIHARA K., TEO W.-E. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers, World Scientific Publishing, 2005.
- [4] PHAM Q.P., SHARMA U., MIKOS A.G. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications : A Review. Tissue engineering, 2005, vol. 12, p. 1197-1211.

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Maroš Tunák, Ph.D.

Katedra hodnocení textilií

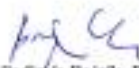
Konzultant diplomové práce: Mgr. Jana Voříšková

Datum zadání diplomové práce: 31. října 2012

Termín odevzdání diplomové práce: 27. května 2013


Ing. Jana Drašarová, Ph.D.
děkanka




Ing. Vladimír Bojář, Ph.D.
vedoucí katedry

V Liberci dne 1. listopadu 2012

Prohlášení

Byl(a) jsem seznámen(a) s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval(a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

27. května 2013, v Liberci

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

V této části bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce panu doc. Ing. Marošovi Tunákovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, ochotu, trpělivost a čas který mi věnoval v rámci řešení této práce a konzultance práce paní Mgr. Janě Voříškové Horákové za odbornou radu a pomoc při tvorbě nanovlákných vrstev. Dále bych chtěla poděkovat rodině za podporu, kterou mi poskytli během studia a v neposlední řadě mému „skoro muži“, že se mnou všechny ty roky překonal bez vzájemné újmy na zdraví.

ANOTACE

V diplomové práci jsou navrženy objektivní algoritmy pro odhad kvantitativních charakteristik nanovláknenných vrstev. Účinnost algoritmů byla testována na sadě monochromatických snímků polykaprolaktonových nanovláknenných struktur vytvořených elektrostatickým zvlákňováním lišících se koncentrací zvlákňovaného polymeru. Snímky nanovláknenných vrstev byly pořízeny skenovací elektronovou mikroskopií. Základními zjišťovanými kvantitativními charakteristikami vytvořených nanovláknenných vrstev byly parametry nanovláknenných pórů, charakteristiky vyskytujících se defektů, orientace a průměry nanovláken. Pro detekci těchto základních parametrů nanovláknenných struktur byly navrženy algoritmy v programu MATLAB a stanovena posloupnost kroků v programu ImageJ.

KLÍČOVÁ SLOVA: nanovláknena, obrazová analýza, MATLAB, ImageJ, póry, defekty v nanovrstvách, orientace nanovláken, průměr nanovláken.

ANNOTATION

In this diploma thesis have been proposed objective algorithms to estimate the quantitative characteristics of nanofiber layers. The effectiveness of algorithms were tested on a set of grayscale images of polycaprolactons nanofiber structures formed by electrospinning with different concentrations of polymer. Images of nanofiber layers were taken by scanning electron microscopy. The basic characteristics extracted of nanofiber layers were parameters of nanofiber pores, characteristics occurring defects, orientation, and nanofiber diameters. To detect these basic parameters of nanofiber structures were created algorithms in MATLAB and determined the sequence of steps in the program ImageJ.

KEY WORDS: nanofibers, image analysis, MATLAB, ImageJ, pores, defects in nanostructures, nanofibers orientation, nanofibers diameter.

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratk	9
Úvod	11
1 Souhrn současného stavu	12
2 Nanovlákná	16
2.1 Možnosti výroby polymerních nanovláken	16
2.1.1 Tažení	17
2.1.2 Syntéza šablonou	17
2.1.3 Fázová separace	18
2.1.4 Samosestavování	19
2.1.5 Melt Blown	19
2.1.6 Elektrostatické zvlákňování	20
2.2 Parametry zvlákňování ovlivňující vlastnosti nanovláknenné vrstvy	21
2.2.1 Vlastnosti nanovláken	23
2.2.2 Aplikace nanovláken	23
3 Analýza obrazu	26
3.1 Způsoby snímání obrazu	28
3.1.1 Transmisní elektronový mikroskop	29
3.1.2 Skenovací elektronový mikroskop	29
3.1.3 Mikroskopie atomárních sil	30
3.2 Programy používané k analýze obrazu	30
3.2.1 MATLAB	30
3.2.2 ImageJ	31
3.3 Digitalizace obrazu	32
3.3.1 Druhy digitálního obrazu	33
3.4 Předzpracování obrazu	34
3.5 Segmentace obrazu	35
3.5.1 Prahování	35
3.5.2 Základní způsoby prahování	36
3.6 Popis nalezených objektů a interpretace výsledků	41
4 Experiment	42
4.1 Testovaná sada vzorků nanovláknenných vrstev	42
4.1.1 Porózita	45
4.1.2 Charakteristika defektů	45
4.1.3 Orientace vláken	47
4.1.4 Průměr vláken	47

4.2	Extrakce parametrů pórů z nanovlákných vrstev	48
4.2.1	Metodika stanovení parametrů pórů v programu MATLAB.....	49
4.2.2	Výsledky metodiky stanovení parametrů pórů v MATLABU	53
4.2.3	Metodika stanovení parametrů pórů v programu ImageJ.....	56
4.3	Zhodnocení extrakce parametrů pórů z nanovlákných vrstev.....	62
4.4	Detekce parametrů defektů nanovlákných vrstev	62
4.4.1	Metodika stanovení parametrů defektů korelační metodou v MATLABU...	63
4.4.2	Výsledky detekce defektů korelační metodou v MATLABU	67
4.4.3	Detekce defektů korelační metodou v ImageJ.....	70
4.4.4	Detekce defektů založená na segmentaci v programu MATLAB	77
4.4.5	Vyhodnocení výsledků detekce defektů segmentací v MATLABU	80
4.4.6	Detekce defektů založená na segmentaci v programu ImageJ	82
4.5	Zhodnocení stanovení parametrů defektů	86
4.6	Extrakce orientace nanovláken	88
4.6.1	Stanovení orientace vláken v programu MATLAB	90
4.6.2	Výsledky stanovení orientace nanovláken v MATLABU.....	93
4.6.3	Stanovení orientace nanovláken v ImageJ – <i>OrientationJ</i>	96
4.6.4	Stanovení orientace nanovláken v ImageJ - <i>Directionality</i>	101
4.7	Zhodnocení extrakce orientace nanovláken.....	105
4.8	Extrakce průměrů nanovláken	106
4.8.1	Stanovení průměrů nanovláken v programu MATLAB.....	107
4.8.2	Stanovení průměrů nanovláken v programu ImageJ manuální metodou	113
4.8.3	Stanovení průměrů nanovláken v ImageJ.....	117
4.9	Zhodnocení extrakce průměrů nanovláken.....	122
5	Závěr.....	123
	Literatura	125
	Přílohy	128

Seznam použitých symbolů a zkratek

$f(x,y)$	Obrazová funkce dvou proměnných x,y
x,y	Souřadnice pixelu
Pixel	Obrazový prvek
M	Počet řádků matice
N	Počet sloupců matice
r	Souřadnice řádku matice – row
c	Souřadnice sloupku matice – column
dpi	Dots per Inch
RGB	R – red, G – green, B – blue
PCL	Polymer polykaprolakton
PLLA	Kyselina poly-L-laktidová
M_w	Molární hmotnost [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
AFM	Mikroskopie atomárních sil
μ_v	Objemová interpretace zaplnění [-]
V	Objem vláken [m^3]
V_c	Celkový objem výřezu vláken [m^3]
μ_s	Plošná interpretace zaplnění [-]
S	Plocha vláken [m^2]
S_c	Celková plocha výřezu [m^2]
ψ	Porózita [-]
V_p	Objem pórů [m^3]
μ	Obecná interpretace zaplnění [-]
$g(x,y)$	Vstupní hodnota pixelu o souřadnicích x,y
T	Prahová hodnota
$f(\alpha)$	Texturní funkce
$\alpha_1 \dots \alpha_n$	Směrové úhly
$w(x,y)$	Obrazová funkce dvou proměnných x,y reprezentující vyhledávací šablonu
u,v	Frekvenční proměnné

$F(u,v)$	Fourierovy koeficienty rozvoje
$P(u,v)$	Výkonové spektrum
$Q(u,v)$	Logaritmické transformace výkonového spektra
m_{pq}	Dvojdímenzionální obecný moment řádu $(p+q)$
Std	Směrodatná odchylka
<i>atd.</i>	A tak dále
<i>tzn.</i>	To znamená
<i>tj.</i>	To jest
<i>např.</i>	Na příklad
ITP	Image Processing Toolbox

Úvod

Nanovlákná jsou vlákna v rozsahu desítek až stovek nanometrů, jejich zanedbatelná struktura je nositelem unikátních vlastností, které jsou určující pro struktury, v kterých jsou obsaženy. Preferovanou vlastností nanovláknenných struktur je malý průměr, vysoký měrný povrch, velká poróznost a malá velikost pórů. Právě tyto parametry nanovláken jsou výchozí pro různé průmyslové aplikace, kterým dodávají nové, modifikované vlastnosti. Mezi oblasti, v nichž má aplikace nanovláken velký potenciál patří zdravotnictví, kosmetika, strojírenství, stavebnictví, elektronika, automobilový průmysl, kosmický průmysl, chemický, vojenský a v neposlední řadě textilní průmysl.

Vlastnosti struktury nanovláken přímo ovlivňují vlastnosti výchozího produktu. Pro maximální využití jedinečných vlastností nanovláken v aplikacích je nutné identifikovat jejich strukturní parametry. Monitorování parametrů vláknenných vrstev je však náročné vzhledem k jejich zanedbatelným nanorozměrům. Problémem charakterizace parametrů nanovláken se v dnešní době zabývá hned několik studií.

Právě z důvodu malých rozměrů nanovláken je k detekci ve většině případů využíváno výpočetní techniky. Princip zjišťování základních parametrů nanovláknenné vrstvy vychází z obrazové analýzy. Pomocí posloupnosti kroků vytvořených s využitím nástrojů obrazové analýzy se z o obrazu nanovláknenné vrstvy stanoví parametry jakými je průměr vláken, poróznost a orientace vláken. Podkladem pro obrazovou analýzu je snímek nanovláknenné vrstvy pořízený převážně elektronovou mikroskopií.

Cílem práce je navrhnout algoritmy pro objektivní odhad kvantitativních charakteristik ze snímků nanovláknenných vrstev pomocí nástrojů obrazové analýzy. Mezi základní parametry, které budou předmětem obrazové analýzy, patří klasifikace mezivláknenných pórů, charakteristika defektů vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách, stanovení orientace a průměrů nanovláken. Výsledkem práce je vytvořit algoritmus navrženého postupu v MATLABU a popsat sled kroků v programu ImageJ. Pro experiment budou použity čtyři vzorky nanovláknenných vrstev lišící se koncentrací, zvlákněvaným polymerem je zvolen biodegradabilní polymer polykaprolakton. Na základě zvolené koncentrace zvlákněvaného roztoku budou sledovány změny parametrů konečné struktury.

1 Souhrn současného stavu

Nanovláknenné materiály se poslední dobou těší značné pozornosti veřejnosti. Pro maximální využití těchto vláken v rozličných aplikacích je důležité určit jejich strukturní parametry. Vzhledem k zanedbatelným rozměrům vláken je zjišťování jejich parametrů komplikovaný proces, který je realizován především s použitím nástrojů obrazové analýzy. Východiskem pro obrazovou analýzu nanovláknenných materiálů jsou především snímky získané elektronovou mikroskopií. Morfologie polymerních nanostruktur je nejčastěji monitorována pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), transmisní elektronové mikroskopie (TEM) a mikroskopie atomárních sil (AFM) [1]. V níže uvedeném přehledu studií jsou představeny metody obrazové analýzy, které jsou nejčastěji používány pro odhad kvantitativních charakteristik nanovláknenných struktur.

Za základní kvantitativní charakteristikou určující hlavní vlastnost nanovláken, kterou je jejich zanedbatelný rozměr můžeme považovat jejich průměr. Stanovením průměrů nanovláken se zabývá mnoho studií.

První studií zabývajících se aplikací nástrojů obrazové analýzy k určení průměru nanovláken je práce Ziabariho [2]. Princip metody stanovení průměrů nanovláken je založen na manuálním měření počtu pixelů vzdálenosti dvou hran nanovláknat kolmo k ose vlákna. V dalším kroku se počet pixelů přepočítá pomocí kalibrační rovnice na počet nanometrů a výsledná hodnota je zaznamenána. Je nutné provést zhruba 100 jednotlivých měření, průměr nanovláken je průměrem z naměřených hodnot. Manuální metoda vedoucí k určení průměrů je časově náročná, nepřilíží přesná a špatně reprodukovatelná.

Z důvodu velkých nedostatků použití manuální metody navrhuje Pourdeyhimi ve studii [3] stanovení průměrů vláken automatickým měřením na základě obrazové analýzy. Vstupní snímek nanovláknenné vrstvy pořízený pomocí SEM je nejprve převeden na binární obraz, dále je provedena skeletonizace čímž vznikne pomyslná „kostra“ vláknenné struktury. Pomocí zadaného algoritmu využívajícího kostru a vzdálenostní transformaci obrazu se automaticky naměří průměry vláken, které mohou být na rozdíl od první, výše uvedené metody změřeny v každém pixelu. Toto měření je jednodušší, není časově náročné, má však jeden nedostatek. Naměřené hodnoty neuvádějí reálnou informaci

o průměru nanovláken, poněvadž do výsledných hodnot jsou zahrnuty i průměry v místech vzájemného překřížení vláken.

Ve studii [2] řeší Ziabari nedostatky předchozí studie zabývající se stanovením průměrů vláken. Cílem navržené metody je řešení problému s překříženými úseky nanovláken, jejichž velikost neodpovídá skutečnému průměru vláken a tím jsou zkresleny následné výpočty parametrů, které mají vypovídat o reálných vlastnostech měřených vláken. Jako vstup je použit binární obraz, základem analýzy je skeletonizace vstupního obrazu. K odstranění místa křížení vláken je nutné toto místo detekovat, v detekovaném průsečíku je následně vykreslen objekt, který je tvořen pixely nesoucími stejnou informaci jako pozadí, tím dojde k odstranění překřížených úseků z binárního obrazu. Průměr vláken je vypočten na základě vzdálenosti jednotlivých pixelů vlákna s jejich nejbližším pixelem reprezentujícím pozadí. Údaje, které jsou získány v pixelech, je možné převést kalibrací na délkové jednotky a dále s nimi pracovat.

Zcela novou metodou zabývající se automatizací měření průměrů nanovláken přináší práce [9]. Metoda stanovení průměrů vláken je založená na integraci obdélníků do profilu vláken. Jako vstupní obraz byly v řešení práce použity SEM snímky melt blow textile, které se vyznačují vysokou ostroží obrazu. Segmentace obrazu se skládá ze tří kroků, prvním krokem je odstranění šumu pomocí Gaussova filtru, následuje transformace monochromatického obrazu na binární za použití globálního prahování, posledním krokem je ztenčení a prořezání obrazové hranice, tj. vytvoření hranic vláken. Vzhledem k tomu, že jsou získané hranice vláken téměř rovné, lze je aproximovat přímkami. Koncové body přímk reprezentujících hranice stejného vlákna jsou spojeny, tím vznikají obdélníky. Obdélníky představují vlákna, průměr vláken je tedy roven šířce vkresleného obdélníku. Tato metoda klasifikace průměrů vláken má několik výhod, mezi které patří dobrá reprodukovatelnost, opakovatelnost a účinnost.

Další důležitou charakteristikou nanovláknenných struktur je jejich poróznost, poróznost například ovlivňuje prodyšnost, prostupnost medií materiálem a v oblasti tkáňového je důležitým parametrem ovlivňujícím rychlost růstu buněk. Stanovení parametrů pórů je důležité z hlediska funkčnosti konečné aplikace obsahující ve své struktuře nanovláknenný materiál. Charakteristika nanovláknenných pórů je předmětem několika studií.

Autorem první studie [4], která se zabývá se klasifikací pórů nanovláknenné vrstvy je Hanghi. Jeho metoda vychází z transformace vstupního monochromatického snímku

nanovlákněné vrstvy na binární obraz. Nejprve jsou v obraze identifikována a odstraněna vlákna, která se dotýkají obrazových hranic. Měřené póry jsou posuzovány jako objekty, mohou jim být přiřazena jednotlivá čísla. V dalším kroku dochází ke změření počtu pixelů v jednotlivých objektech, čímž jsou získány velikosti jednotlivých pórů.

Další metodiku, jak získat parametry pórů netkaných textilií představil kolektiv autorů studie [5]. Pro aplikaci metody byly SEM snímky netkaných nanovlákněných vrstev převedeny použitím prahování na binární obraz. Metodika spočívá v analýze pórů pomocí aplikace kruhových útvarů několika charakterizovaných velikostí, které by mohly proniknout nasnímanou nanovlákněnou vrstvou do obrázku. V dalším kroku dochází k sečtení a normalizování množství kruhů pro každý vzorek. Póry jsou vypočítány na základě derivace distribuční křivky, k přesnějšímu určení byla ve studii použita kombinace dvou exponenciálních funkcí.

Ghasemi-Mobarakeh a kolektiv se ve své práci [6] zabývají měřením pórovitosti různých vrstev nanovlákněných struktur. Základem pro analýzu obrazu byly naskenované SEM fotografie nanovlákněných materiálů o rozlišení 600dpi a o 256 úrovních šedi. Snímky SEM elektronové mikroskopie lze považovat za analogii světelného mikroskopu, SEM snímky jsou však tvořeny zpracováním odražených nebo sekundárních elektronů. Podstatou metodiky zjištění pórovitosti jednotlivých vrstev nanovlákněné struktury je převedení vstupního obrazu na binární obraz pomocí několika zvolených prahů. V této studii bylo zjištěno, že pomocí vhodně zvoleného prahu lze zobrazit různé vrstvy nanomateriálu. Jednotlivé prahy byly zvoleny na základě intenzity úrovně šedi pixelů jednotlivých nanovlákněných vrstev vstupního monochromatického obrazu. Horní nanovlákněné vrstvy se vyznačují vyšší intenzitou úrovně šedi, což bylo způsobeno větším počtem odražených elektronů. Spodní vrstvy vykazují nižší úroveň šedi, vzhledem k tomu, že k nim na základě charakteru vlákněné struktury proniklo malé množství elektronů.

Mezi sledované parametry nanovlákněných struktur patří také orientace vláken. Uspořádání vláken v kompozitních materiálech má přímý vliv na jejich konečné vlastnosti, jakými je například pevnost, filtrační schopnost a zvuková izolace.

Orientací vlákněných systémů se zabývá například studie [7]. Autoři studie detekují orientaci vláken na základě Fourierovy transformace. Na rozdíl od jiných studií např. studie [8], není orientace vláken stanovena globálně z celého snímku vlákněné vrstvy. Ke stanovení orientace vláken je přistupováno detailněji, celková orientace vláken

zobrazených na snímku vláknenné struktury je stanovena na základě mnoha jednotlivých měření. Princip metody je založen na rozdělení vstupního obrazu na mnoho malých podobrazů, pro které jsou převedeny prostřednictvím Fourierovy transformace do frekvenční oblasti. Dalším krokem je prahování, kterým dojde k vyčlenění objektu zájmu z frekvenčního spektra – elipsy. Orientace vláken je následně popsána pomocí centrálních momentů mezi hlavní osou elipsy a x -ovou osou. Výstupem stanovení orientace vláken je dle autorů studie histogram, jádrový odhad distribuce směrů a polární diagram. Mezi výhody této metody stanovení orientace vláken ve strukturách patří přesnost a dobrá reprodukovatelnost.

Vzhledem k náročnosti uvedených metodik získávání jednotlivých parametrů nanovláknenných struktur je snaha o vytvoření algoritmu, který by byl schopen klasifikovat více parametrů najednou. Příkladem je studie [9], v níž skupina vědců zveřejnila metodu, která navrhuje algoritmus pro získávání orientace, poloměru a průměrů vláken ze SEM snímků vláknenných vrstev. Podstatou metody je konstrukce trojrozměrného tvaru vláken. Původní dvojrozměrný obraz je aproximován pomocí koulí tzv. „metaballs“, ty jsou vytvořeny postupnou analýzou obrazu. Pro zjednodušení algoritmu bylo uvažováno, že jsou průměry nanovláken kruhové. Podstata algoritmu spočívá v detekci kostry vláken a následném vytvoření „metaballs“ pro každý pixel tohoto skeletu. Poloměr jednotlivých koulí byl získán ze vzdáleností hranic vláken v binárním obraze. Statistické údaje, jako je orientace vláken, poloměr vláken a průměr pórů jsou přímo známé z parametrů „metaballs“. Metoda je jednoduchá, rychlá a automatická, je daleko výhodnější než ruční měření. Další výhodou je identifikace jednotlivých vláken, což je zásadním krokem pro výpočet dalších statistických informací.

Dalším trendem v zjišťování základních charakteristik nanovláknenných struktur je vývoj automatických systémů. Vývojem se zabývá například firma FAI [10], která patří mezi přední výrobce elektronových mikroskopů a analytických systémů. Firma uvedla na trh systém Fibermetric propojený s elektronovým mikroskopem. Tento systém je schopen během několika vteřin změřit a vyhodnotit základní parametry nanovláken jakými jsou průměr vláken a velikost mezivláknenných pórů. Systém automaticky nasbírá stovky měření, pomocí Gaussovy fitovací funkce automaticky změří průměry vláken a velikost pórů. Tento systém slouží jako nástroj pro kontrolu kvality a pro určení vlastností nanovláknenné struktury, jakými je například filtrační účinnost.

2 Nanovláknna

Nanovláknna jsou velmi originální vláknenné útvary vyznačující se především svými zanedbatelnými rozměry. Předpona nano pochází z řeckého slova τρᾰσλῐ́κ „νανο“, pokud dosahuje nějaké struktura nanorozměrů znamená to, že se jedná o miliardtinu základní jednotky. Vláknno je definováno jako délkový útvar, jehož délka je mnohonásobně větší než průměr. Nanovláknna jsou tedy taková vlákna, která mají alespoň jeden z rozměrů v řádech nanometrů. Nanovláknna se jen zřídka vyskytují samostatně, většinou jsou z nanovláken tvořeny struktury, nebo prostorové celky, se kterými lze nějakým způsobem manipulovat a plně využít jejich vlastností. Jedinečné vlastnosti nanovláknenných struktur jsou dány vlastnostmi jednotlivých vláken mezi které patří

- velký měrný povrch,
- zanedbatelný průměr vláken,
- vysoká porozita,
- malé rozměry pórů.

Vzhledem ke svým vlastnostem jsou nanovláknna úspěšně aplikována v různých průmyslových oborech. Aplikace nanovláken dodává stávajícím materiálům lepší pevnost, pružnost, odolnost, propustnost, tepelnou a zvukovou izolaci, životnost, lepší elektrické a optické vlastnosti a další. Nanovláknna mají velký potenciál využití v oblastech kapalinové a vzduchové filtrace, ochraně životního prostředí, energetickém průmyslu, zdravotnictví, strojírenství, kosmetice a tkáňovém inženýrství, vněmž je vidět velký potenciál využití těchto struktur. Jednotlivé aplikace nanovláken v různých průmyslových odvětvích jsou podrobněji uvedeny níže v podkapitole 2.2.2. Aplikace nanovláken.

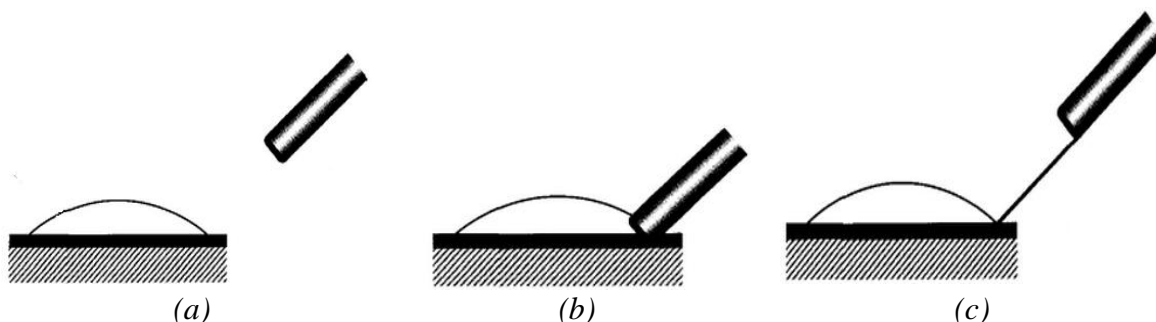
2.1 Možnosti výroby polymerních nanovláken

Způsobů výroby polymerních nanovláken je hned několik. Mezi nejznámější patří tažení, syntéza šablonou, fázová separace, samosestavování, meltblown a nejpoužívanější elektrostatické zvlákňování („electrospinning“). Jednotlivé způsoby výroby se od sebe vzájemně liší například efektivitou výroby, náročností procesu, možnostmi řídit parametry konečných vláken a možnostmi zavedení hromadné výroby vláken jednotlivými technologiemi. Dle zvoleného způsobu výroby se dá předpokládat konečný průměr, délka vláken a orientace vláken. Princip výroby nanovláken dle jednotlivých metodik, jejich

výhody, nevýhody, efektivita a možnost aplikace do průmyslové výroby jsou uvedeny níže v následujícím textu.

2.1.1 Tažení

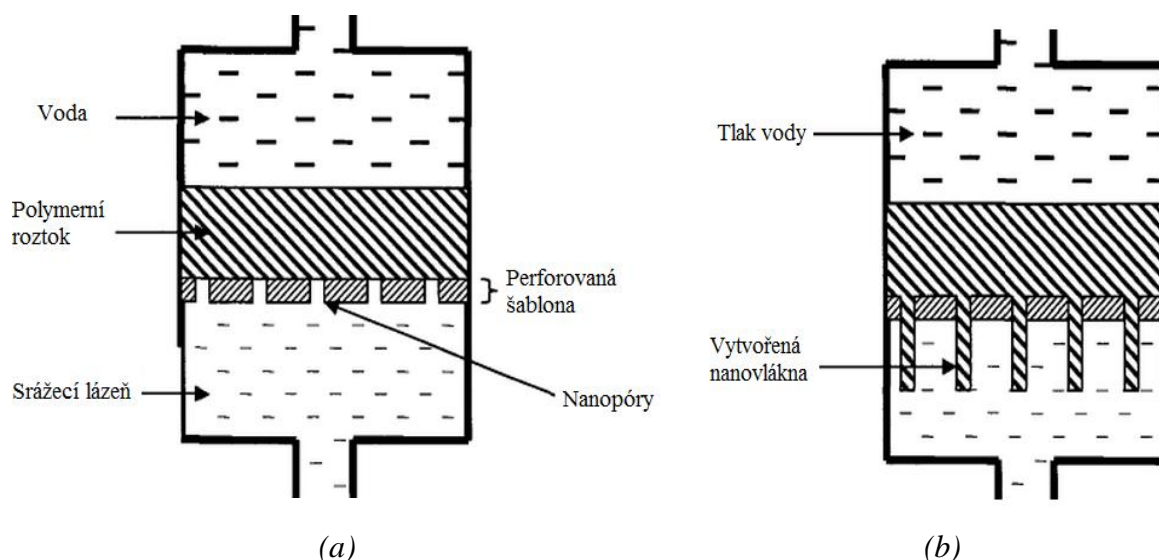
Princip technologie výroby nanovláken tažením můžeme považovat za nejjednodušší způsob. Princip metody je založen na vytahování nanovlákn z kapky polymeru pomocí mikromanipulátorem ovládané pipety, která má průměr o velikosti několika mikrometrů. Rychlost tažení vlákna se musí pohybovat okolo 10^{-4} m.s^{-1} [11]. Nevýhodou této metody je, že nedovoluje řídit průměr vláken, ten se pohybuje v rozpětí od 2 nm do 100 nm, délka vláken je okolo 10 mikrometrů. Výhodou metody výroby nanovláken tažením jsou minimální požadavky na technické vybavení. Tento způsob výroby slouží pouze pro laboratorní účely [1]. Princip metody tažení je graficky znázorněn na obr. 1(a)-(c).



Obr. 1 Princip výroby nanovláken tažením, (a) pipeta a kapka polymeru, (b) zachycení vlákna pipetou, (c) tažení vlákna [1].

2.1.2 Syntéza šablonou

Výroba nanovláken metodou nazývanou syntéza šablonou vyžaduje použití membrán nebo jiných struktur, kdy je za pomoci tlaku zvlákňovaný polymer vytlačován přes tuto perforovanou šablonu do srážecí lázně, kde dochází k tunutí vytvořených vláken. Nejčastěji používanými materiály k výrobě šablon jsou oxidy kovů – například oxid hlinitý. Princip metody je graficky znázorněn na obr. 2(a),(b). Průměr takto vytvořených vláken je závislý na průměru pórů membrány. Tato metoda je určena pouze pro laboratorní účely, velkou výhodou je, že je dobře reprodukovatelná a lze definovat průměr vláken. Velikost průměrů vláken je zhruba 100 nm, délka vláken je 10 mikrometrů [1].

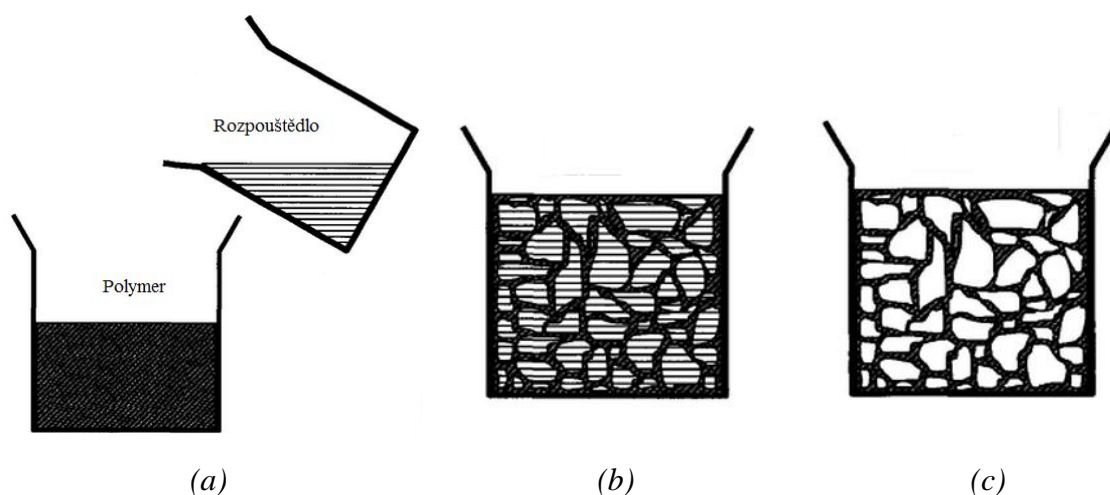


Obr. 2 Výroba nanovláken syntézou pomocí šablony (a), (b) [1].

2.1.3 Fázová separace

Dalším způsobem výroby nanovláken je fázová separace. Mechanismus této metodiky výroby nanovláken je založen na separaci fází na základě fyzické neslučitelnosti. Polymer je nejprve smíchán s rozpouštědlem a je vytvořen homogenní roztok, schéma je zobrazeno na obr. 3(a). Malé množství roztoku je nalito do teflonové nádoby, zde je pomocí vhodné teploty dosaženo gelace polymeru, znázorněno na obr. 3(b). Teplota gelace se pohybuje od -18°C do 45°C a je závislá na koncentraci polymeru. Po procesu gelace dochází k odstranění původního rozpouštědla jiným rozpouštědlem, které musí být na jiné bázi (takovým rozpouštědlem je např. voda), během odstraňování rozpouštědla se vytváří nanovláknenná struktura uvnitř gelu. V další fázi je materiál vysušen na teplotu tuhnutí druhého rozpouštědla, toto rozpouštědlo za sníženého tlaku sublimuje.

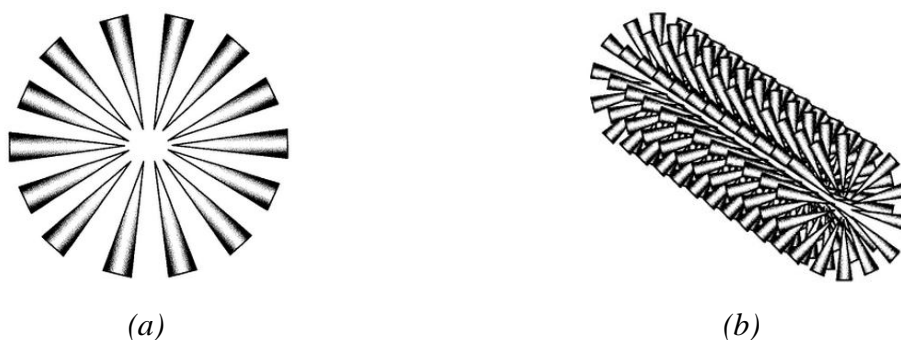
Výsledkem metody fázové separace je nanovláknenný útvar, zobrazený na obr. 3(c). Nevýhodou je, že není možné řídit průměry vláken, průměry se pohybují v rozmezí od 50 nm do 500 nm. Další nevýhodou je časová náročnost metody a určení pouze pro specifické polymery, jako je poly-L-laktid kyselina (PLLA) a polykaprolakton (PCL) [1], [14].



Obr. 3 Fázová separace, (a) tvorba homogenního roztoku, (b) gelace, (c) výsledný nanovlákný útvar [1].

2.1.4 Samosestavování

Metodika výroby nanovláken samosestavováním je založena na skládání nanovláken pomocí malých molekul, které plní funkci pomyslných stavebních bloků. Hlavním mechanismem montáže jsou mezimolekulární síly, které shlukují malé jednotky dohromady a tvoří z nich makromolekulární útvary – nanovlákná. Výhodou je schopnost vytvořit vlákna s malým průměrem, který se pohybuje od 7 nm do 100 nm v závislosti na použitém polymeru. Nevýhodou je neschopnost řídit velikost průměrů vláken a vhodnost metody pouze pro laboratorní účely [14]. Na obrázku obr. 4(a) a (b) je graficky znázorněna metoda výroby nanovláken metodou samosestavování.



Obr. 4 Metoda výroby nanovláken samosestavováním (a), (b) [1].

2.1.5 Melt Blown

Způsob tvorby nanovláken použitím metody melt blow spočívá v protlačování taveniny polymeru tryskou a jeho následném zvlákňování pomocí proudu horkého vzduchu, který má z pravidla stejnou teplotu, jako roztavený polymer. Výhodou je

možnost průmyslové výroby, průměry vyrobených nanovláken se pohybují okolo 250 nm, vlákna jsou v podstatě nekonečná [14].

2.1.6 Elektrostatické zvlákňování

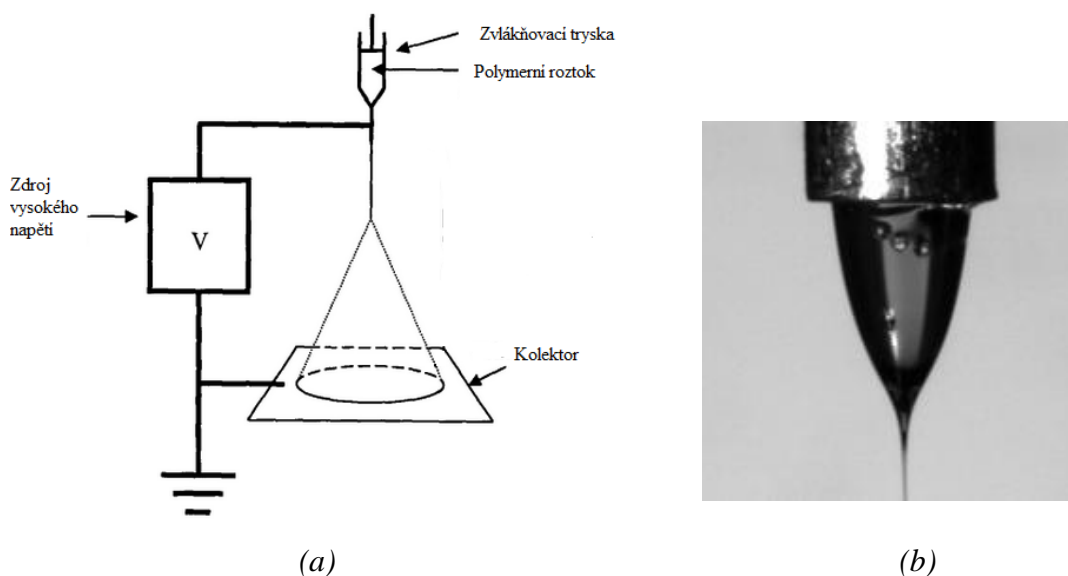
V současné době patří elektrostatické zvlákňování mezi nejrozšířenější způsoby výroby nanovláken. Na rozdíl od předešlých metod je možné aplikovat elektrostatické zvlákňování na průmyslovou výrobu.

První zmínky o elektrostatickém zvlákňování pochází z roku 1934, kdy Anthon Formhals zveřejnil několik patentů na výrobu polymerních vláken [1]. V současnosti je převratným objevem průmyslové výroby nanovláken elektrostatickým zvlákňováním technologie NanospiderTM, kterou v roce 2003 vynalezl profesor Oldřich Jirsák na Katedře netkaných textilií TUL. Na rozdíl od předešlých technologií nejsou ke zvlákňování roztoku zapotřebí trysky, zvlákňování probíhá z otáčejícího se válce částečně ponořeného do polymerního roztoku, tím je dosaženo vysoké výrobní efektivity.

Metodika elektrostatického zvlákňování je založena na využití účinku elektrostatického pole na kapalinu – polymerní roztok, působením kterého dochází k vytvoření velmi tenkých vláken. Schéma elektrostatického zvlákňování je uvedeno na obr. 5(a). Vlákna jsou tvořena mezi dvěma opačně nabitými elektrodami, jedna elektroda je napojena na trysku se zvlákňovanou kapalinou, to vede k vytvoření náboje na povrchu kapaliny. Takto nabitá kapalina je přitahována elektrostatickými silami druhé elektrody tzv. kolektorem, ten je většinou případů uzemněn. Se zvýšením intenzity elektrického pole se plocha kapaliny na špičce trysky začíná prodlužovat, je překonáváno povrchové napětí kapaliny a tvoří se kónický tvar známý jako Taylorův kužel, Taylorův kužel je zobrazen na obr. 5(b). Při dalším zvýšení intenzity elektrického pole dojde k překonání povrchového napětí a dochází k dloužení vláken [1]. Zjednodušeně, lze říci, že se zvlákňovací zařízení dle [13] skládá ze tří základních složek, kterými je

- zdroj vysokého napětí,
- kapilární trubice s jehlou nebo pipetou malého průměru,
- sběrné zařízení.

Výhodou tohoto způsobu zvlákňování je vysoká efektivita a možnost vytvořit nekonečná vlákna. Mezi nevýhody metody výroby nanovláken prostřednictvím elektrostatického zvlákňování patří nestabilita proudu.



Obr. 5 (a) elektrospining [1], (b) Taylorův kužel [11].

2.2 Parametry zvlákňování ovlivňující vlastnosti nanovlákné vrstvy

Parametry procesu zvlákňování mohou výrazně ovlivnit konečný vzhled i vlastnosti nanovláken. Průběh elektrostatického zvlákňování je dle [1], [13] a [14] ovlivněn několika parametry. Mezi parametry ovlivňující elektrostatické zvlákňování patří vlastnosti polymerního roztoku, polymerní roztok ovlivňuje konečný výsledek zvlákňování především

- charakterem struktury a typu zvlákňovaného polymeru,
- viskozitou,
- typem použitého rozpouštědla,
- vodivostí,
- povrchovým napětím.

Dalším parametrem ovlivňujícím elektrostatické zvlákňování je samotný proces zvlákňování, proces zvlákňování je charakterizován

- velikostí aplikovaného napětí,
- průměrem trysky,
- rychlostí průtoku polymerního roztoku tryskou (zvlákňovací jehlou),
- hydrostatickým tlakem,

- elektrickým potenciálem na elektrodě,
- vzdáleností elektrod.

V neposlední řadě je proces zvlákňování ovlivněn okolním prostředím zvlákňovacího zařízení tzv. spinneru. Za okolní prostředí spinneru považujeme

- teplotu vzduchu,
- vlhkost vzduchu.

V následujícím textu jsou blíže popsány některé parametry elektrostatického zvlákňování.

Koncentrace polymeru v roztoku

Polymerní roztoky se skládají z polymeru a zvoleného rozpouštědla. V literatuře [1] se uvádí, že je možné vytvořit nanovlákná až z 50 různých polymerů. Mezi často používaná rozpouštědla patří voda, etanol, metanol, chloroform, aceton. Poměr a volba polymeru s rozpouštědlem ovlivňuje průběh zvlákňování tím, že změnou koncentrace a složení zvlákňovaného roztoku dochází ke změně viskozity. Důsledkem nevhodné koncentrace je tvorba kulovitých defektů ve výsledné zvlákněné nanovlákněné struktuře (kulovité defekty jsou v literatuře [11] označovány jako perličky).

Viskozita polymerního roztoku

Velikosti průměrů konečných vláken jsou ovlivněny především viskozitou polymerního roztoku. Vyšší viskozita má dle [1] za následek větší průměr vláken – viskozita je přímo úměrná průměru vláken.

Povrchové napětí

Napětí, které je tvořeno soudržností molekul na povrchu kapaliny nazýváme povrchové napětí. Jak již bylo zmíněno dříve, překonání povrchového napětí polymerního roztoku je jedním ze základních požadavků k tvorbě vláken. K překonání povrchového napětí slouží elektrostatické síly mezi dvěma kolektory. Napětí, které je dodáváno se nazývá dle [12] aplikované napětí. Obecně platí, že vyšší aplikované napětí vysune více zvlákňovaného roztoku, což má za následek větší průměr vlákna [11]. Snížení povrchového napětí roztoku je možné pomocí volby vhodného rozpouštědla.

Průměr trysek

Velikost průměrů zvláknovacích trysek přímo ovlivňuje konečný průměr vláken.

Vzdálenost mezi elektrodami

V práci [11] a [13] bylo zjištěno, že vzdálenost elektrod ovlivňuje konečný vzhled vláken, ale je také závislá na jiném parametru zvláknování – na volbě rozpouštědla. Roztoky na vodní bázi při malé vzdálenosti elektrod vykazují mokrá vlákna (nedostatečný čas pro odpaření rozpouštědla), jejichž průměry nejsou ve všech místech vlákna stabilní. Ve struktuře vláken vznikají malé defekty elipsového tvaru, taková vlákna jsou označována jako vlákna s perličkovou strukturou. U roztoků vykazujících tvorbu dříve definovaných defektů je nutné zvýšit vzdálenost mezi elektrodami. Pro polymerní roztoky, které obsahují těkavá rozpouštědla, může být vzdálenost mezi elektrodami menší – odpařují se rychleji.

2.2.1 Vlastnosti nanovláken

Vlastnosti nanovláken můžeme dle [13] dělit na geometrické, chemické, fyzikální a mechanické. Geometrickými vlastnostmi nanovláken jsou

- poróznost,
- průměr vláken,
- tvar průřezu,
- měrný povrch.

Důležitými fyzikálními vlastnostmi nanovláken, které ovlivňují konečné vlastnosti hotového výrobku, jsou především

- transportní vlastnosti vzduchu a páry,
- elektrické transportní vlastnosti (vodivost).

Mezi chemické vlastnosti nanovláken řadíme například molekulární strukturu zvlákněného polymeru. Poslední mechanická vlastnost, která je plně využívána v rozličných aplikacích je vysoká pevnost v tahu.

2.2.2 Aplikace nanovláken

Aplikace nanovláken je stále otevřenou oblastí a jsou nalézány stále nové možnosti jejich co nejlepšího uplatnění a maximálního využití jejich dříve zmíněných vlastností.

Využití nanovláken v běžném životě je velmi rozsáhlé, prakticky jsou vlákna aplikována ve všech průmyslových odvětvích. Některé způsoby použití těchto ojedinělých struktur jsou popsány v následujícím textu.

Kompozitní materiály

Použití nanovláken jako kompozitního materiálu zvyšuje konečnou pevnost výsledných aplikací. Nanovlákná mají vysokou pevnost a malou váhu, to je jeden z hlavních důvodů, proč jsou vhodná na výrobu vysoce funkčních kompozitních materiálů. Dříve byla do kompozitních materiálů používána mikrovlákná, ta mají ale horší mechanické vlastnosti a nejsou transparentní. Mezi populární kompozitní nanomateriály patří karbonová vlákna a karbonové nanotrubice [12].

Tkáňové inženýrství

Lidskou tkáň je možné z konstrukčního hlediska považovat za formu nanovláknenné struktury, této podoby se snaží moderní tkáňové inženýrství využít a hledá nové směry použití nanovláken v medicínských aplikacích. Biokompatibilními nanovláknami lze nahradit řadu měkkých tkání, kterými jsou například cévy, vytvořit umělé orgány, nanovlákná lze také použít jako oporou pro regeneraci tkání, orgánů, chrupavek, kostí a nervů [1]. Podrobné informace o využití nanovláken v oblasti tkáňového inženýrství jsou uvedeny v práci [28].

Dodávání léčiv

Aplikace nanovláken v řízeném dodávání léčiv je jedním z nejvíce šetrných a efektivních způsobů, jakým lze léčivo pacientovi dodat. Dle [13] platí, že čím jsou rozměry použitého léčiva a materiálu menší, tím se lék lépe vstřebává – zapouzdřuje přímo do vláken.

Obvazový materiál

Nanovlákná mohou být použita jako obvazový materiál k usnadnění léčby ran nebo popálenin. Za pomoci speciální pistole, která pracuje na bázi elektrického pole je možné nanovlákná nastříkat přímo na postižené místo a tím vytvořit ochrannou vrstvu, která zabrání kontaminaci rány bakteriemi, podpoří růst kůže a eliminuje zjizvení tkáně.

Ochranné dýchací masky

Díky použití nanovláken v ochranných maskách je možné zaručit větší bezpečnost jejího uživatele, poněvadž tato struktura eliminuje vdechování mikročástic prachu, chemikálií i nebezpečných bakterií.

Kosmetika

Nanovlákná jsou přidávána do kosmetických přípravků jakými jsou krémy z několika důvodů – zamezují migraci krému do citlivých míst, jakými jsou třeba oči, také pomáhají léčbě ran, čištění pleti a urychlují přenos hojících nebo jiných aktivních látek na kůži.

Filtry

Použití nanovláknenných vrstev ve filtračních materiálech má za následek zvýšení filtrační účinnosti, snížení hmotnosti, potřebné energie a objemu filtrů. Díky malým průměrům nanovláken jsou filtrem zachyceny i mikročástice. Filtry se používají v mnoha odvětvích – například čištění odpadních a pitných vod, vzduchové filtry, filtry výfukových plynů, průmyslové filtry.

Ochranné oděvy

Hlavní funkcí ochranných oděvů je bezesporu schopnost maximalizovat bezpečí jejich uživatele. Jedná se například o ochranu před extrémními přírodními podmínkami, biologickými a chemickými hrozbami. Díky specifickým povrchovým vlastnostem jsou oděvy obsahující nanovlákná schopné zachytit nebezpečné látky nebo ochránit před větrem, ale zároveň jsou dostatečně prodyšné a tím zabezpečují komfortní pocit uživateli.

Ostatní aplikace

Použití vodivých nanovláken při výrobě malých elektronických zařízení a strojů, použití vodivých membrán pro aplikace fotovoltaiických zařízení, elektromagnetického rušení, ochraně proti korozi, optické senzory [12].

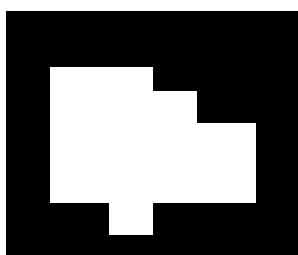
V práci byly nastíněny základní způsoby a parametry výroby nanovláken, definovány hlavní vlastnosti těchto struktur a uvedeny některé oblasti využití nanovláken v různých

průmyslových odvětvích. Historie, výroba, vlastnosti a rozličné aplikace nanovláken jsou velmi širokou oblastí. Předmětem práce však není teoretický souhrn faktů, ale analýza obrazu, jejímž cílem je identifikace parametrů nanovláknenných vrstev. Pro rozšíření teoretických informací o nanovláknenech doporučuji práce [1], [12], [14] a [28]. Následující část této diplomové práce je zaměřena na analýzu obrazu.

3 ANALÝZA OBRAZU

Analýza obrazu je složitý proces, jehož cílem je za použití několika posloupných kroků co nejlépe identifikovat a klasifikovat hledané objekty zobrazené na snímku, tzn. převést informace obsažené v obraze do číselné podoby. Pojmem objekty rozumíme v textilním odvětví ty oblasti, které nás zajímají vzhledem ke svým vlastnostem (např. vlákna, řezy vláken, defekty, atd.). Obrazová analýza zabývající se charakterizací objektů v textilní oblasti vnímá jako objektové systémy délkové, plošné a prostorové textilie.

Objektem neboli regionem může být například v binárním obraze označena množina spojených pixelů o hodnotě 1 (bílá barva), za hrany objektů považujeme ty jednotkové pixely, které mají ve svém sousedství aspoň jeden nulový pixel reprezentující pozadí (černá barva). Příklad bílého objektu vyskytujícího se na černém pozadí je uveden na obr. 6(a),(b).



(a)

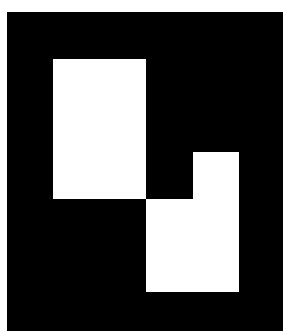
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	0
0	1	1	1	1	0
0	1	1	1	1	0
0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0

(b)

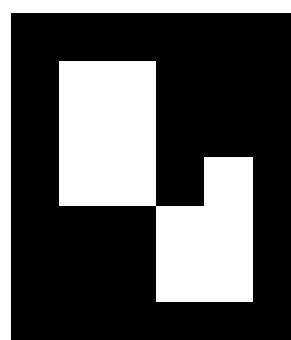
Obr. 6 Binární snímek se zobrazeným objektem (a), numerický zápis zobrazeného objektu na pozadí (b).

Definování objektů záleží též na vzájemném vztahu množiny pixelů, kterou je objekt tvořen. Množinu pixelů lze jednomu objektu přiřadit na základě dvou přístupů definujících vzájemný vztah objektových pixelů, prvním přístupem je 4-sousedství, druhým 8-sousedství. V případě 4-sousedství obrazových pixelů zobrazených na

obr. 7(a1), jsou za součást jednoho objektu považovány pixely nacházející se ve vertikálním a horizontálním směru od bodu zájmu o souřadnicích r, c . Schéma 4-sousednosti je uvedeno na obr. 7(a2). Na základě 4-sousedství byly ve vstupním binárním snímku nalezeny dva samostatné objekty, tyto objekty jsou uvedeny na obr. 7(a3). V případě 8-sousedství zobrazeného na obr. 7(b2), jsou za jeden objekt považovány všechny pixely dotýkající se pixelu zájmu se souřadnicemi r, c tzn. za součást jednoho objektu jsou považovány pixely nacházející se na obou diagonálách. Aplikací 8-sousedství na vstupním binárním obraze obr. 7(b1), je v obraze detekován pouze jeden objekt, zobrazený na obr. 7(b3).



(a1)



(b1)

	$(r-1, c)$	
$(r, c-1)$	(r, c)	$(r, c+1)$
	$(r+1, c)$	

(a2)

$(r-1, c-1)$	$(r-1, c)$	$(r-1, c+1)$
$(r, c-1)$	(r, c)	$(r, c+1)$
$(r+1, c-1)$	$(r+1, c)$	$(r+1, c+1)$

(b2)

0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	0
0	0	0	1	1	0
0	0	0	1	1	0
0	0	0	0	0	0

(a3)

0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	0
0	0	0	1	1	0
0	0	0	1	1	0
0	0	0	0	0	0

(b3)

Obr. 7 Binární obraz (a1), schéma 4-sousedství (a2), dva objekty nalezené na základě 4-sousedství (a3), binární snímek (b1), schéma 8-sousedství (b2), jeden objekt nalezený na základě 8-sousedství (b3).

Určení parametrů objektů vyskytujících se v textilních systémech má význam z hlediska zpracovatelských i užitných vlastností koncového výrobku. Mezi základní kroky zpracování obrazu umožňující klasifikaci objektů patří

- snímání obrazu,
- digitalizace obrazu,
- předzpracování obrazu,
- segmentace obrazu,
- popis nalezených objektů,
- porozumění obsahu obrazu.

Prvním krokem vedoucím k detekci parametrů nanovláknenných vrstev je pořízení digitálního obrazu této vrstvy. Snímání nanovláknenných struktur je realizováno především elektronovou mikroskopií. Následujícím krokem kterým se obrazová analýza zabývá, je předzpracování obrazu, v této fázi dochází k úpravě vstupního snímku, mezi úpravy patří například redukce šumu a jasové transformace. Vzhledem k tomu že byly pořízené SEM snímky v dobré kvalitě, fáze předzpracování obrazu nebyla vždy potřebná, popřípadě postačila redukce šumu mediánovou filtrací. Dále následuje nejdůležitější část tzv. segmentace obrazu, jejímž cílem je definovat oblasti zájmu, ze kterých je možné v dalších fázích stanovit parametry nanovláknenných struktur.

Jednotlivé kroky tvořící obrazovou analýzu jsou popsány v následujících podkapitolách.

3.1 Způsoby snímání obrazu

Jak již bylo řečeno, prvním krokem předcházejícím obrazové analýze zaměřené klasifikaci parametrů nanovláknenných struktur jako je průměr vláken, orientace vláken a velikost mezivláknenných pórů je snímání obrazu. Cílem snímání obrazu je získat vhodný vstupní obraz nanovláknenné vrstvy určený k dalšímu zpracování. Vzhledem k zanedbatelným rozměrům nanovláken není možné snímky vrstev pořídit použitím světelného mikroskopu. K pořízení vhodného vstupního obrazu nanovláknenných vrstev slouží elektronové mikroskopy. Mezi elektronové mikroskopy řadíme skenovací elektronový mikroskop (SEM) a transmisní elektronový mikroskop (TEM) a mikroskopii atomárních sil (AFM) [1].

3.1.1 Transmisní elektronový mikroskop

Transmisní elektronový mikroskop (TEM) umožňuje pozorování vzorků do tloušťky 100 nm při velkém rozlišení, lze jej považovat za analogii světelného mikroskopu v procházejícím světle. Princip TEM je založen na průchodu elektronového svazku preparátem, který má za následek únik elektronů. Elektrický proud je vyvíjen na preparát pomocí trysek obsahujících wolframové vlákno. Ke zviditelnění elektronů, které prošly preparátem, a zobrazovacím systémem je třeba převést informace – velikost energie a množství elektronů na obraz. Obraz je vyprodukován objektivovou čočkou a dále je zvětšován pomocí projektivů a intermediálních čoček. K tomu se používá stínítko pokryté síranem zinečnatým. Tato mikroskopie je prováděna ve vakuu, vzorky je nutné obarvit solemi těžkých kovů, což má negativní vliv na výsledný obraz, dochází ke snížení rozlišení [15], [16]. Ukázka snímku TEM nanovláknenné vrstvy je na obr. 8(a).

3.1.2 Skenovací elektronový mikroskop

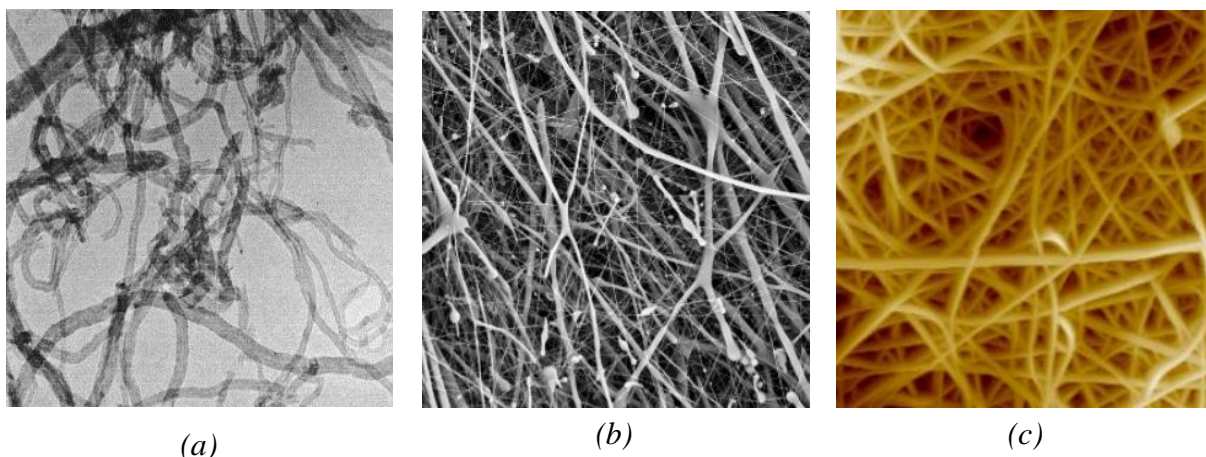
Skenovací elektronový mikroskop (SEM) je určen k pozorování povrchů různých objektů, v české literatuře je SEM nazýván též jako rastrovací nebo řádkovací elektronový mikroskop. SEM mikroskopii je možné považovat za analogii světelného mikroskopu. Rozdíl spočívá v získávání výsledného obrazu, výsledný obraz je u SEM získán detekcí signálu odražených nebo sekundárních elektronů, které jsou uvolněny na povrchu zkoumaného preparátu.

Produkce odražených elektronů je závislá na středním atomovém čísle vzorku. Čím je atomové číslo vzorku vyšší tzn., jedná se o těžší prvek, tím je zobrazená oblast světlejší. Pokud je zobrazovaná oblast tmavá, jedná se o oblast tvořenou lehkým prvkem. Obraz získaný pomocí odražených elektronů barevně odlišuje oblasti s různým prvkovým složením. K zobrazení povrchu preparátu slouží v SEM sekundární elektrony. Sekundární elektrony mají nízkou energii, do detektoru se proto dostanou hlavně sekundární elektrony ležící na povrchu preparátu, což má za následek zobrazení vrchní vrstvy preparátu s vyšší intenzitou úrovně šedi, u spodních vrstev je tomu naopak [16].

Před samotnou mikroskopií se musí vzorky potáhnout tenkou vrstvou vodivého kovu – například zlatem nebo platinou. Tento způsob mikroskopie se vyznačuje velkou hloubkou ostrosti. Rozlišovací schopnost těchto přístrojů se pohybuje kolem 10 – 15 nm. Získání jednoho obrazu může trvat až několik minut [15]. SEM snímek 18% PCL je k nahlédnutí na obr. 8(b).

3.1.3 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopie atomárních sil (AFM) umožňuje atomární zobrazení zkoumaného preparátu. Princip mikroskopie - velmi tenký hrot, který je umístěn na pružném raménku detekuje zkoumaný preparát, jeho pohyb (vibrace a ohyb raménka) jsou zaznamenávány pomocí laseru, který předává informaci fotodetektoru. Skenování je založeno na načítání výškového profilu preparátu řádek po řádku [15]. Obraz elektrostaticky zvlákněných nanovláken pořízený pomocí AFM je uveden na obr. 8(c).



Obr. 8 Ukázka snímků nanovláknenné vrstvy získané pomocí (a) TEM [17], (b) SEM a AFM (c) [18].

3.2 Programy používané k analýze obrazu

V dnešní době slouží k analýze obrazu velké množství grafických, či programovacích prostředí. V této práci byla analýza obrazu realizována ve dvou prostředích, v prostředí interaktivního programu MATLAB a grafického programu ImageJ. Podrobný popis těchto dvou programů je uveden v následujícím textu.

3.2.1 MATLAB

MATLAB® je interaktivní prostředí pro numerické výpočty, vizualizaci a programování. Použitím programu MATLAB je možné analyzovat data, vyvíjet algoritmy, vytvářet modely a aplikace. V programu MATLAB jsou uživatelům k dispozici nástroje a vestavěné matematické funkce, které umožňují prozkoumat více přístupů a dospět k řešení rychleji než je tomu pomocí jiných programovacích jazyků, jakým je například Java™. Program MATLAB je možné použít pro řadu aplikací, mezi které patří i analýza obrazu.

Pro realizaci analýzy obrazu je v programu určen Image Processing Toolbox TM (IPT), který poskytuje sadu algoritmů, funkcí a aplikací pro zpracování obrazu, analýzy, vizualizace a vývoje algoritmů. Mezi operace, které lze díky IPT realizovat patří úpravy obrazu, redukce šumu, detekce, segmentace obrazu, vytváření obrysů, tvorba histogramů atd. Image Processing Toolbox podporuje rozmanitou sadu obrazových typů [19].

Nevýhodou analýzy obrazu v prostředí MATLAB je složitá tvorba algoritmů a nutnost uživatelských znalostí práce v prostředí tohoto programu. Další nevýhodou je špatná dostupnost programu, na rozdíl od ImageJ není program MATLAB volně přístupný, uživatel si musí koupit licenci. Mezi výhody patří snadná reprodukovatelnost vytvořeného algoritmu obrazové analýzy pro různé snímky [19].

3.2.2 ImageJ

ImageJ je program určený ke zpracování a analýze obrazu vyvinutý společností National Institutes of Health. ImageJ se vyskytuje ve dvou podobách, první verze je pro uživatele dostupná online, druhá verze je volně stahovatelná. Program vychází z programovacího jazyka Java. Je dostupný pro Windows, Mac OS a Linux. Architektura programu není uzavřená, díky tomu je možné program rozšířit pomocí Java zásuvných modulů. Program nabízí uživateli vytvoření vlastního doplňkového modulu pomocí editoru. Program pracuje s formáty TIFF, GIFF, JPEG, RAW, BMP, DICOM, FITS. Obraz je možné analyzovat, zpracovávat, ukládat a tisknout v 8-bit, 16-bit a 32-bitové kvalitě.

Program podporuje standardní funkce zpracování obrazu, jakými jsou kontrastní manipulace, ostření, vyhlazování, detekce hran a filtrování. Pomocí programu ImageJ je možné vypočítat plochu a statistické hodnoty pixelů pomocí uživatelsky definovaných výběrů. Dále je možné provádět geometrické transformace měřítka, změřit úhly, tvořit histogramy a grafy [20].

Mezi hlavní výhody analýzy obrazu prostřednictvím programu ImageJ patří především jeho volná dostupnost. Dále je velkou výhodou absence tvorby složitých algoritmů, analýza obrazu je realizována na základě zabudovaných nástrojů, tím se stává program uživatelsky přístupnější. Nevýhodou zpracování obrazu v prostředí programu ImageJ je absence reprodukovatelnosti analýzy, navržený postup je nutné opakovat.

3.3 Digitalizace obrazu

Hlavním předpokladem pro realizaci obrazové analýzy je převedení snímku nanovláknenné vrstvy do digitální podoby. Digitalizaci si můžeme představit jako proces, ve kterém je obraz rozdělen pravidelnou sítí na přesně definované čtvercové nebo obdélníkové oblasti [16].

Digitální obraz je možné vnímat jako funkci f dvou proměnných (x,y) , kde x, y jsou prostorové souřadnice a amplituda f je intenzita stupně šedi v určitém bodě daného obrazu [21]. Aby bylo možné obraz zpracovat v počítači, musí být funkce f digitalizovaná. Digitální obraz je v počítači nejčastěji reprezentován maticí o M řádcích a N sloupcích. Prvky matice se nazývají obrazové elementy - pixely a jejich hodnota je závislá na množství světelné energie [16]. Jak bylo uvedeno dříve u snímků pořízených na základě SEM mikroskopie, je hodnota jednotlivých obrazových elementů závislá na množství odražených a sekundárních elektronů. Od vláken ležících na povrchu vrstvy se odrazí více sekundárních elektronů, vrchní vlákna vykazují vyšší úroveň jasu než vlákna spodní vrstvy.

Digitalizace souřadnic se nazývá vzorkování, digitalizace intenzity jasu se nazývá kvantování. Podstatou vzorkování je uspořádání jednotlivých obrazových elementů do rastru (většinou pravidelné mřížky) a určení jejich vzdáleností. Kvantování jasové úrovně každého vzorku do k intervalů způsobí, že jasová funkce nabývá v digitalizovaných obrazech celočíselných hodnot. Počet kvantovacích intervalů musí být dostatečně velký, aby byly v následném obrazu zachyceny i detaily a nedocházelo k jeho zkreslování, například ke vzniku falešných obrysů. Počet kvantovacích úrovní jasu je vyjádřen vztahem

$$k=2^b, \quad (1)$$

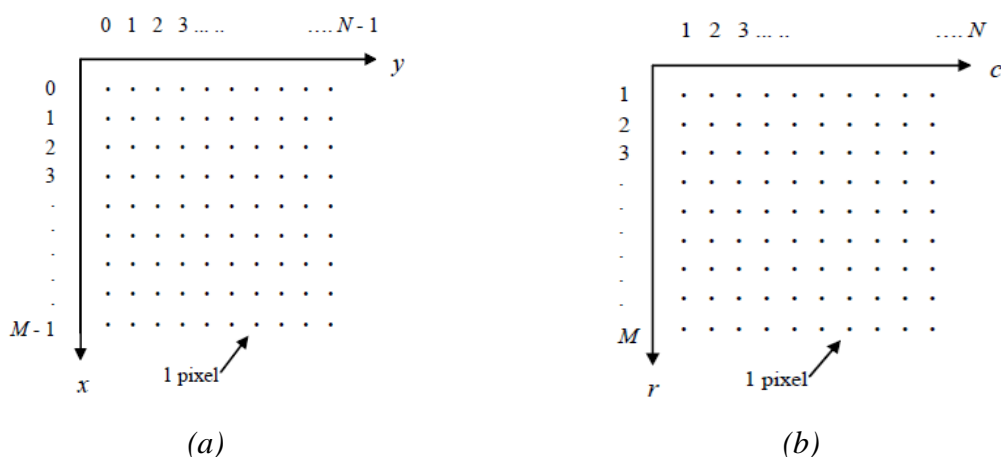
kde k je počet úrovní jasu a b počet bitů na jeden obrazový element.

Na velikosti vzorkování a kvantování závisí konečná podoba digitalizovaného obrazu a jeho podobnost s obrazem původním. Čím jemnější tyto dva procesy jsou, tím lépe je původní obrazový signál aproximován [22].

Jak bylo zmíněno dříve, výstupem kvantování a vzorkování je matice reálných čísel. Přepokládáme, že výsledný obraz $f(x,y)$ je matice o rozměru M řádků a N sloupců, na základě toho můžeme říci, že obraz má velikost $M \times N$. Ve většině případů je počátek matice obrazu definován v bodech $(x,y) = (0,0)$. Příklad takovéto matice je na obr. 9(a).

V programu MATLAB je počátek obrazu definován v bodech $(r,c) = (1,1)$, kde r značí řádek (row) a c sloupec (column) v obrazové matici. Obrazová matice pro zpracování obrazu v programu MATLAB je zobrazena na obr. 9(b).

Pixel je základní obrazový prvek, je nejmenší složkou digitálního obrazu, který je charakterizován intenzitou. Jednotlivé pixely tvoří čtvercovou síť, poloha jednotlivých pixelů je definována souřadnicemi. Nespojitá řada samostatných pixelů tvoří digitální obraz.



Obr. 9 Pozice pixelů v obecné obrazové matici (a) [21], (b) v obrazové matici používané programem MATLAB [21].

3.3.1 Druhy digitálního obrazu

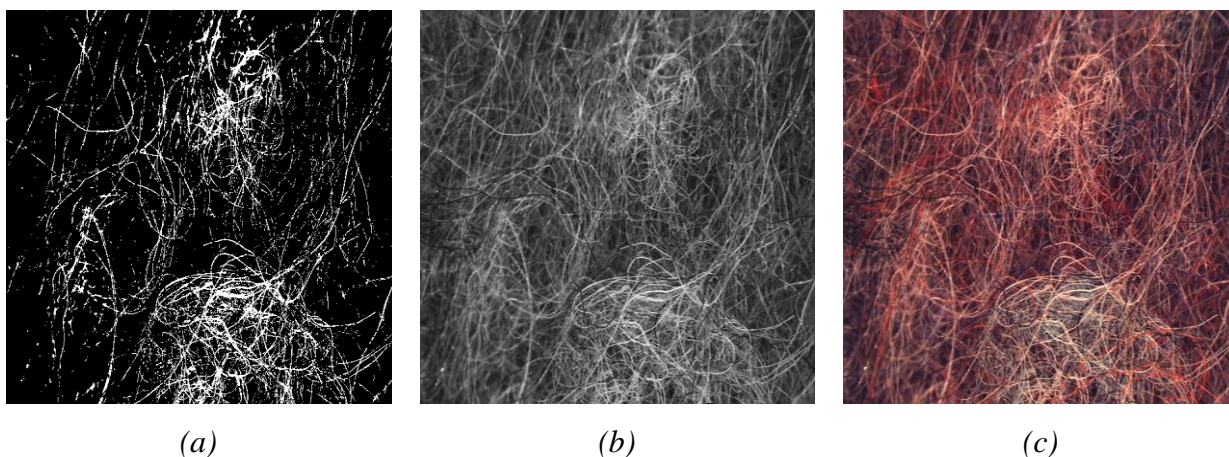
Jak bylo řečeno výše, základní složkou digitálního obrazu je pixel. Jednotlivé pixely jsou uspořádány do souřadného systému, tzv. rastru. Každý pixel je nositelem vlastní barevné informace, která je zaznamenána pomocí bitů. Podle barevné informace kterou pixely nesou, rozlišujeme, o jaký typ obrazu se jedná. Obraz dělíme na binární, monochromatický a barevný, ukázka jednotlivých obrazů je uvedena na obr. 10(a)-(c). V případě této diplomové práce byly jako vstupní obrazy použity monochromatické snímky nanovlákných vrstev získané skenovací elektronovou mikroskopií.

Binární obraz je nejjednodušším obrazem. Základní jednotkou tohoto obrazu je jeden bit, který nabývá pouze dvou hodnot – nul a jedniček. Nula reprezentuje černou barvu, která označuje pozadí, jednička reprezentuje barvu bílou, která tvoří oblast objektů. Binární obraz vzniká transformací obrazu monochromatického, používanou transformací je například prahování.

Monochromatický obraz, též nazývaný šedotónový obraz, je založen na intenzitě odstínů jedné barvy. Jeden pixel obrazu se skládá z 8 bitů. 8-bitový obraz má od 0 do 255

odstínů šedé, kde je 0 reprezentována černou barvou a 255 je barva bílá. Monochromatický obraz je výstupem dříve zmíněné elektronové mikroskopie, světlou barvou jsou prezentovány buď části zkoumaného preparátu složené z těžkých prvků, nebo vrchní vrstva zkoumaného preparátu v závislosti na množství odražených elektronů.

Barevný obraz RGB se kládá ze tří základních barev – červené (Red), zelené (Green) a modré (Blue). Jakoukoliv barvu ze spektra lze složit pomocí kombinací těchto barev. Hodnoty pixelů pro každou složku jsou od 0 do 255, vzhledem k tomu, že každý pixel může obsahovat všechny tři složky, je možné jednomu pixelu určit až 16 milionů barev (256^3).



Obr. 10 Ukázka základních typů obrazu (a) binární obraz, (b) šedotónový obraz a barevný obraz (c) [23].

3.4 Předzpracování obrazu

Cílem předzpracování obrazu je upravit nasnímaný digitalizovaný obraz do takové podoby, aby bylo možné co nejsnadněji a nejpřesněji získat z obrazu kvantitativní nebo kvalitativní charakteristiky týkající se hledaných objektů. Předzpracování obrazu je důležitým krokem předcházející segmentaci. Mezi základní nástroje předzpracování obrazu patří

- kontrastní a jasové transformace,
- operace vedoucí k potlačení šumu a zkreslení obrazu,
- zostření obrazu,
- úprava histogramu úrovní šedi.

V této diplomové práci byla ve fázi předzpracování obrazu použita vzhledem ke kvalitě SEM snímků pouze operace vedoucí k potlačení šumu v obraze. Šum byl ze vstupních snímků PCL nanovlákných vrstev potlačen použitím mediánového filtru. Mediánový filtr byl aplikován v prostředí programu MATLAB i v prostředí programu ImageJ. Způsob aplikace a princip mediánového filtru je uveden v další části práce. Předzpracovaný obraz je vhodným vstupem pro nejdůležitější část obrazové analýzy tzv. segmentaci obrazu, která je popsána v následující podkapitole.

3.5 Segmentace obrazu

Segmentace obrazu je jedním z nejvíce důležitých kroků ve zpracování obrazu, cílem segmentace obrazu je získat obraz, který je co nejvíce vhodný k identifikaci hledaných objektů. Za objekty v obraze považujeme ty části obrazu, které se nějakým způsobem liší od svého okolí - pozadí. Objekty je od pozadí možné rozeznat na základě různých indikátorů, mezi indikátory patří např. barva, intenzita šedi, geometrické vlastnosti a struktura objektů.

Díky segmentaci obrazu je možné oddělit zkoumané objekty snímku od pozadí, zjednodušit obraz a získat vstup pro kvalifikaci číselných informací o objektech. Výstupem segmentace obrazu je zpravidla binární obraz. V práci byla pro realizaci segmentace použita metoda prahování, princip metody je popsán v následujícím textu.

3.5.1 Prahování

Prahování je základním a nejčastěji používaným nástrojem segmentace obrazu. Díky prahování je možné oddělit objekty od pozadí. Základním předpokladem pro prahování je poznatek, říkající, že objekt se od pozadí odlišuje jinými vlastnostmi (barvou, jasnem, tvarem).

Prahováním nazýváme transformaci vstupního monochromatického obrazu $f(x, y)$ na výstupní obraz $g(x, y)$, za aplikace prahové hodnoty o úrovni jasu T . Výsledkem této transformace je, že obrazové elementy s hodnotou jasu větší než zvolený práh T , nabudou hodnoty 1 (bílá barva) a charakterizují objekty, obrazové elementy s hodnotou jasu menší než zvolený práh T , nabudou hodnotu 0 (černá barva) a je jimi reprezentováno pozadí. Prahování s použitím jedné prahové hodnoty T lze dle [21] definovat pomocí vztahu

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & \text{pro } f(x,y) > T \\ 0 & \text{pro } f(x,y) \leq T. \end{cases} \quad (2)$$

Další možnost transformace vstupního obrazu na binární je pomocí víceúrovňového prahování. Zvolený práh víceúrovňového prahování na rozdíl od prahování s jedním prahem nenabývá pouze jedné hodnoty, ale určitého intervalu od T_{min} do T_{max} . Obrazové elementy vstupního obrazu $f(x,y)$, které nabývají hodnot ležících ve zvoleném intervalu, nabudou transformací na výstupní obraz $g(x,y)$ hodnoty 1, ostatní pixely ponesou informaci 0. Vztah platící pro víceúrovňové prahování je uveden v následující rovnici

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & \text{pro } f(x,y) \in (T_{min}; T_{max}) \\ 0 & \text{pro } f(x,y) \text{ jinak} \end{cases} \quad (3)$$

3.5.2 Základní způsoby prahování

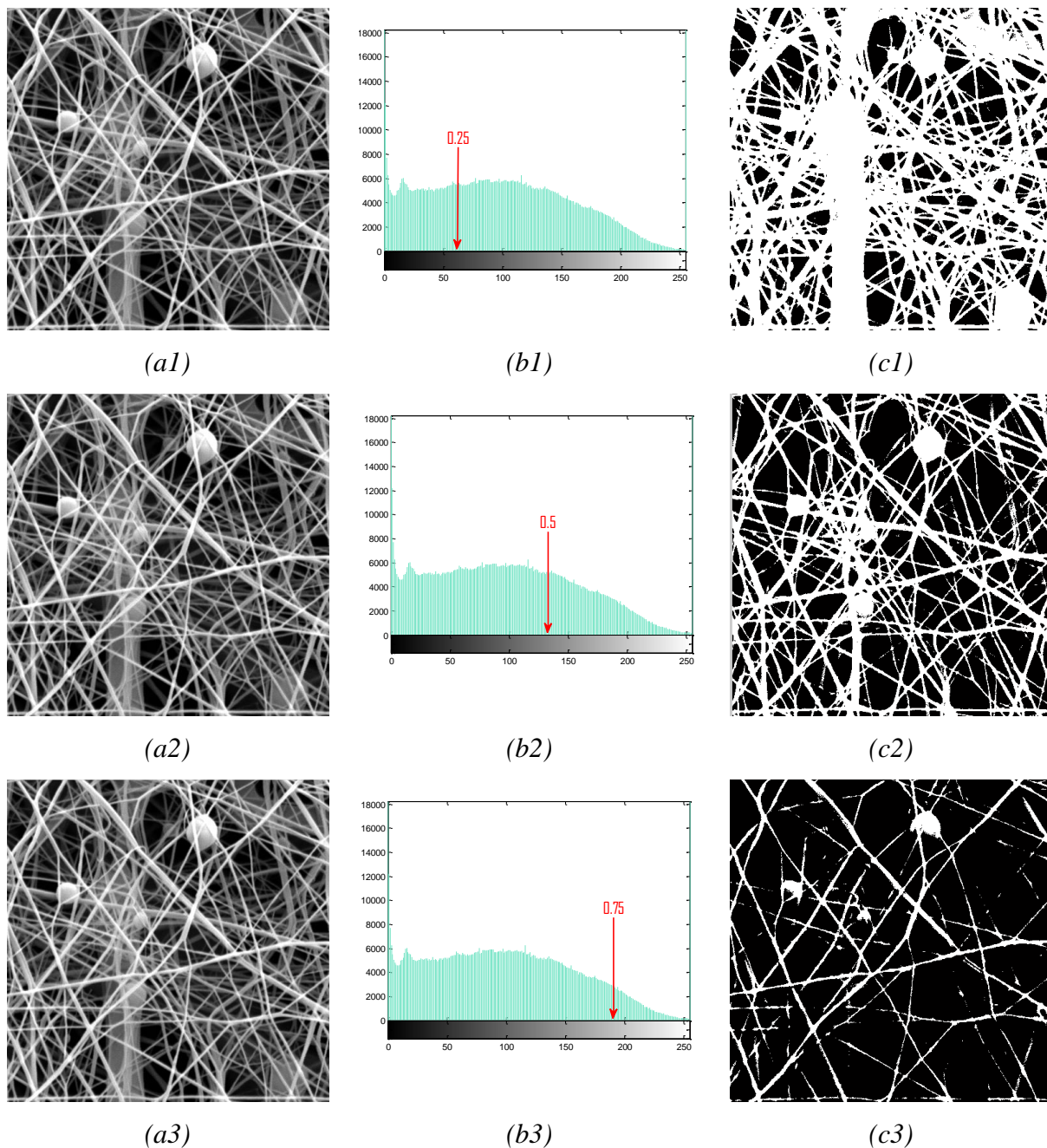
Jedním ze způsobů jakým lze v prostředí programu MATLAB převést šedotónový obraz na binární je použití zaimplementované funkce `im2bw.m`. Pomocí této funkce lze specifikovat práh pohybující se v intervalu od 0 do 1. Velikost prahu byla volena experimentálně, pouze odhadem. K demonstraci vlivu hodnoty prahu na vstupní obraz byl použit monochromatický snímek 16% PCL o velikosti 1024x1024 pixelů znázorněný na obr. 11(a1)-(a3).

Nejprve byl k transformaci vstupního obrazu na binární použit práh o velikost 0.25. Prahová hodnota je znázorněna na histogramu obr. 11(b1). Všechny oblasti vstupního obrazu vykazující úroveň šedi větší než zadaný práh nabyly po transformaci hodnoty 1 (bílá barva). Důsledkem této transformace je, že ve výsledném obraze obr. 11(c1) bylo ponecháno příliš mnoho objektů, objekty vzájemně splývají a nedošlo k odstranění spodních vrstev nanovlákněné struktury.

Zvýšením hodnoty prahu na 0.5 graficky znázorněné na histogramu uvedeném na obr. 11(b2), nabyly po transformaci na binární obraz všechny pixely vykazující úroveň šedi menší než 127.5 hodnotu 0 (černá barva). Tím došlo k odstranění spodních vrstev struktury ve výstupním binárním obraze. Ve výsledném obr. 11(c2) je méně ponechaných vláken, výsledný binární obraz je čitelnější.

Pokud byla hodnota zvoleného prahu příliš vysoká 0.75 (prahová hodnota je zobrazena na histogramu úrovní šedi uvedeném na obr. 11(b3)), v binárním obraze byla zobrazena

pouze místa vykazující vysokou úroveň šedi. Důsledkem takto zvoleného prahu bylo, že v transformovaném binárním obraze bylo ponecháno malé množství vláken a vlákna nejsou celistvá, takto transformovaný binární snímek je uveden na obr. 11(c3).



Obr. 11 Vstupní monochromatický snímek vrstvy nanovláken 16% PCL (a1), (a2), (a3), histogram úrovně šedi s vyznačeným prahem 0.25 (b1), 0.5 (b2), 0.75 (b3), výsledný binární obraz za užití příslušné prahové hodnoty (c1), (c2) a (c3).

Volba prahu pomocí histogramu úrovní šedi

Volba prahu je založena na histogramu četnosti výskytu jednotlivých úrovní šedi ve vstupním monochromatickém snímku, (jasových úrovních obrazu). Tento způsob prahování je vhodný především pro obraz, jehož histogram úrovní šedi je bimodální, tj. histogram má dvě maxima. Bimodálnost histogramu může být způsobena například převažujícím výskytem šedi o dvou intenzitách.

Práh je z bimodálního histogramu určen například jako

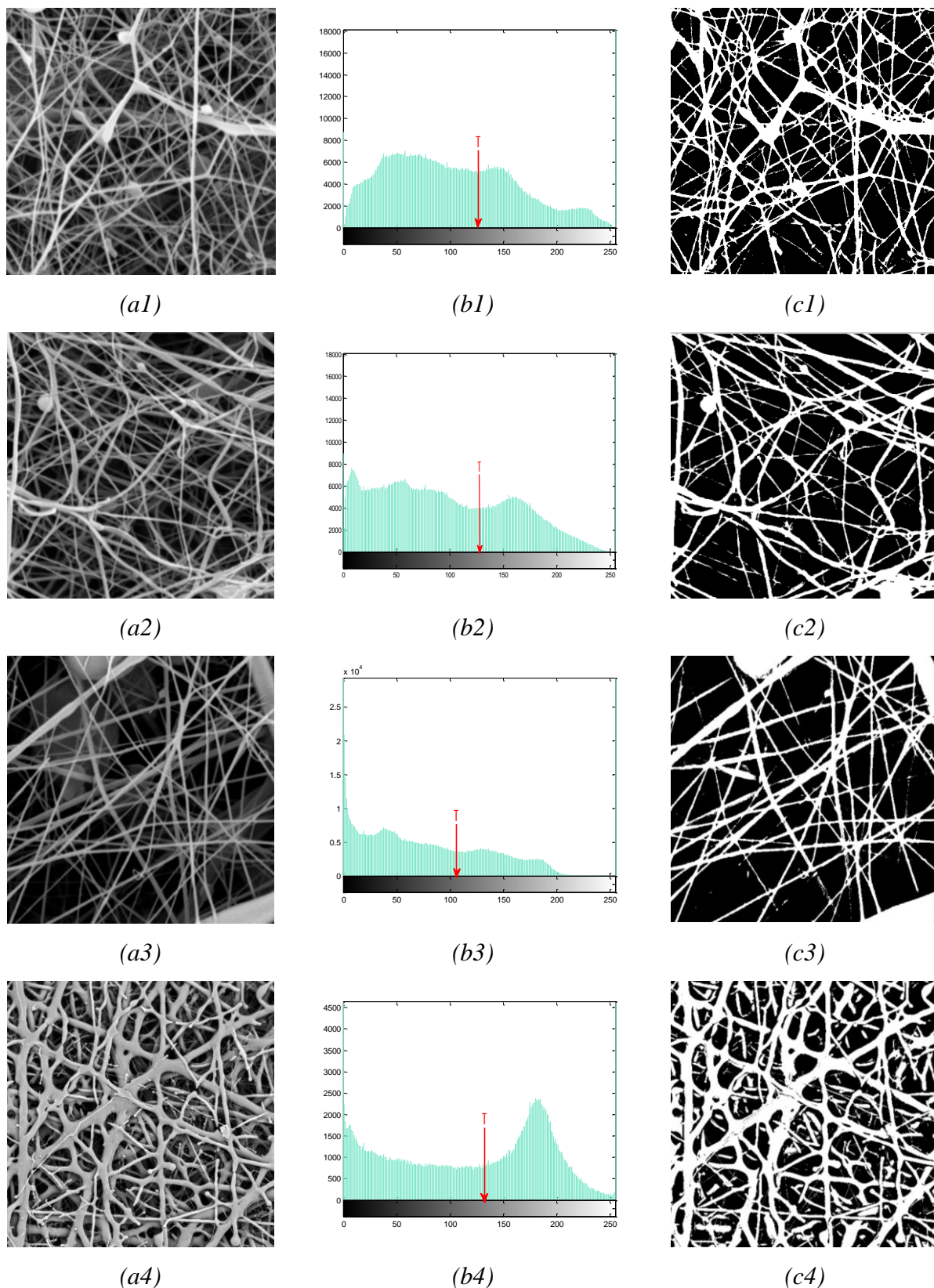
- polovina vzdálenosti mezi dvěma maximy,
- lokální minimum mezi dvěma maximy.

Převod monochromatického obrazu na binární byl realizován také pomocí prahu odvozeného na základě histogramu úrovně šedi vstupního obrazu. Prahování proběhlo prostřednictvím zabudované funkce `im2bw.m`. Touto funkcí byly nalezeny všechny pixely vstupního obrazu, mající hodnotu úrovně šedi menší než zadaný práh a byla jim přiřazena hodnota 0 znázorňující pozadí obrazu (černá barva), ostatní pixely jsou nositeli informace 1 (bílá barva) a reprezentují objekty.

Jako objekty chápeme v prostředí programů umožňující obrazovou analýzu regiony neboli oblasti zájmu, které jsou nositelem informací vypovídajících o parametrech např. nanovláknenné struktury. Za objekt můžeme považovat například vlákno, pór, ale i celou vláknennou strukturu. V ukázkovém příkladě byly za objekty považovány vlákna tvořící vrchní vrstvu nanovláknenné struktury.

V prostředí programu MATLAB slouží k vyvolání histogramu popisujícího zastoupení úrovně šedi v obraze zaimplementovaná funkce `imhist.m`. Jednotlivé histogramy četnosti úrovní šedi pro zvolené monochromatické snímky nanovláknenných vrstev lišících se koncentrací zvlákněného polymeru PCL, znázorněných na obr. 12(a1)-(a4), jsou uvedeny na obr. 12(b1)-(b4). U všech histogramů je graficky zaznačena hodnota prahu. Na histogramech úrovně šedi uvedených na obr. 12(b1),(b2),(b4) byla zvolena hodnota prahu 130, pro histogram na obr. 12(b3) hodnota prahu 110.

Použitím prahování s jedním prahem lze například oddělit vrchní vrstvu obrazu od spodní a tím získat binární obraz struktury, který má vypovídající informace například o velikosti pórů mezi vlákny a je vhodný pro další zpracování. Příklad oddělení vrchní vrstvy vláken od vstupního monochromatického obrazu je uveden na následující straně pomocí binárních snímků zobrazených na obr. 12(c1)-(c4).



Obr. 12 Šedotónový snímek nanovláknenné vrstvy (a1)-(a4) o koncentraci 14%, 16%, 18% a 20% PCL, histogram odpovídající úrovni šedi (b1)-(b4), výsledný binární snímek (c1)-(c4).

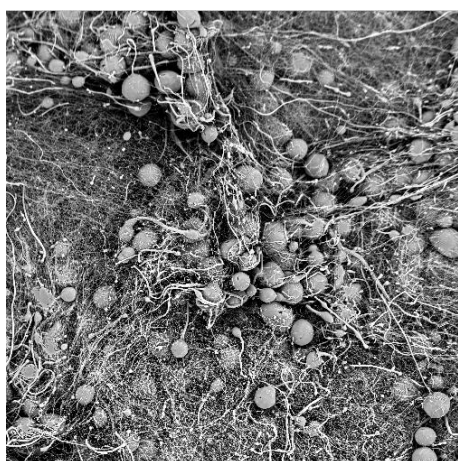
Příklad použití víceúrovňového prahování

Jak bylo řečeno dříve, víceúrovňové prahování spočívá v definování prahu jako intervalu. Použitím víceúrovňového prahování je možné selektovat z obrazu objekty, které jsou nositeli stejné nebo blízké jasové informace. V práci bylo toto prahování použito pro segmentaci kulovitých defektů vyskytujících se v nanovlákněné vrstvě. Kulovité defekty jsou viditelné na snímku nanovlákněné vrstvy 16% PCL zobrazeném na obr. 13(a). Práh byl zvolen na základě informace o intenzitě šedi objektu zájmu, která byla zjištěna manuálně ze zkoumaného obrazu.

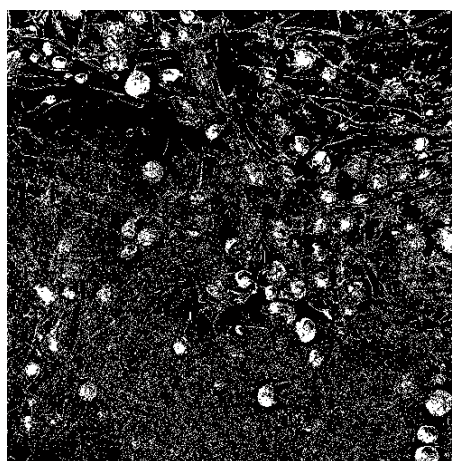
Pro realizaci víceúrovňového prahování byl v prostředí programu MATLAB použit jednoduchý algoritmus založený na dříve definovaném vztahu (3). Algoritmus použitý pro realizaci víceúrovňového prahování je uveden níže.

- Zjistí rozsah intenzity úrovně šedi hledaných objektů (`imtool.m`).
- Definuj prahovací interval.
- Vytvoř binární obraz, pixely s úrovní šedi nespádající do zadaného intervalu jsou po transformaci nositelem informace 0 ($I_{bw} = I > T_{min} \ \& \ I < T_{max}$).

Intenzita kulovitých defektů zobrazených na vstupním snímku 16% PCL o velikosti 1024x1024 pixelů se pohybuje v intervalu od 150 do 190. Pomocí takto zvoleného prahu došlo k oddělení defektů od nanovlákněné struktury obr. 13(b).



(a)



(b)

Obr. 13 Vstupní monochromatický obraz 16% PCL (a), (b) binární obraz 16% PCL za použití prahu ležícího v intervalu (150,190).

3.6 Popis nalezených objektů a interpretace výsledků

Popis nalezených objektů je chápána jako popis kvantitativních číselných charakteristik, mezi které se řadí například plocha, obvod a popis kvalitativních charakteristik objektů, tzn. relace mezi objekty. Za interpretaci výsledků je považováno porozumění obsahu obrazu.

V prostředí programu MATLAB slouží k získání kvantitativních charakteristik jednotlivých objektů obrazu funkce `regionprops.m`. Vstupem pro získání informací o objektech je například matice vzniklá z binárního obrazu vyvoláním zaimplementované funkce `bwlabel.m`. Výstupem této funkce je matice `L` (`label matrix`) o stejné velikosti jako vstupní obraz, která obsahuje indexy jednotlivých objektů vyskytujících se ve vstupním obraze. Díky volitelné proměnné, která může mít hodnotu 4 nebo 8, je stanoveno buď 4-sousedství nebo 8-sousedství množin pixelů. Pokud je argument proměnné vynechán, objekty jsou definovány na základě 8-sousedství. Prvky matice `L` jsou celočíselné hodnoty větší nebo rovno 0. Pixely označené 0 reprezentují pozadí. Obrazové pixely označené indexem 1 tvoří jeden objekt, pixely označené indexem 2 tvoří druhý objekt a tak dále. Ukázka značení objektů v matici je uvedena na obr. 14(a),(b).

Na základě vytvořené matice jsou získány vlastnosti pro každý objekt binárního obrazu, jejich výsledné hodnoty jsou uvedeny v pixelech. Vlastnosti, které byly vyhodnoceny v rámci řešení této práce, jsou uvedeny níže.

- Area – Skalární, skutečný počet pixelů v jednotlivých regionech.
- Perimeter – Skalární vzdálenost (počet pixelů) kolem hranice regionu. Obvod je vypočítán jako vzdálenost mezi jednotlivými přilehlými páry pixelů kolem hranice regionu.

1	0	0	0
1	1	0	0
1	1	0	1
0	0	0	1
0	0	1	1
1	0	0	1
1	1	0	1
1	0	0	1

(a)

1	0	0	0
1	1	0	0
1	1	0	3
0	0	0	3
0	0	3	3
2	0	0	3
2	2	0	3
2	0	0	3

(b)

Obr. 14 Binární obraz obsahující objekty (a), značení objektů v matici `L` (b).

4 Experiment

Cílem experimentální části práce bylo navržení metod a algoritmů pro odhad kvantitativních charakteristik nanovláknenných vrstev za použití obrazové analýzy, vytvořit algoritmus navrženého postupu v programu MATLAB a popsat sled kroků v programu ImageJ.

Prvním krokem experimentální části bylo vytvoření vzorků nanovláknenných vrstev získaných pomocí elektrostatického zvlákňování. Tvorba nanovláknenných vrstev byla realizována v laboratoři KNT metodou elektrostatického zvlákňování polymeru polykaprolaktonu. Po vytvoření vzorků o rozdílné koncentraci zvlákňovaného roztoku následovalo snímání obrazu nanovláknenných struktur použitím skenovací elektronové mikroskopie. Pořízené snímky byly použity jako vstupní obrazy pro realizaci obrazových analýz vedoucích k vytvoření algoritmů v programu MATLAB a navržení sledu kroků v programu ImageJ, které mají za cíl definovat parametry nanovláknenných struktur.

Klasifikovanými parametry nanovláknenných struktur byla charakteristika mezivláknenných pórů, určení parametrů defektů vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách, orientace a průměry nanovláken. Podrobný popis výroby nanovláknenných vzorků, parametrů zvlákňování a charakterizace hledaných parametrů vytvořených nanovláknenných vrstev je uveden v následujících podkapitolách.

4.1 Testovaná sada vzorků nanovláknenných vrstev

Ke zvlákňování byl zvolen polymer polykaprolakton (dále jen PCL). PCL je biodegradabilní ester, který má široké uplatnění v biomedicínských aplikacích jakými jsou například cílené dodávky léčiv a materiál pro šití. Po uzdravení tkáně je PCL vstřebáno do organismu – dochází k hydrolýze esterové vazby [24], [28].

Pro experiment byl použit PCL o molekulové hmotnosti $M_w = 45\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, polymer byl následovně rozpuštěn v roztoku chloroformu a etanolu. Tyto dvě složky rozpouštědla byly v poměru 9 : 1 (chloroform: etanol). Celkem došlo k zvlákňování čtyř různých roztoků lišících se koncentrací PCL a rozpouštědla.

Vlákna byla vytvořena použitím technologie elektrostatického zvlákňování, které bylo realizováno z jehly. Vlákna byla zvlákňována na podkladovou textilií vytvořenou technologií spunbond. U všech vzorků rozdílných koncentrací PCL byly zachovány stejné

parametry zvlákňování polymerních roztoků PCL. Parametry zvlákňování polymerních roztoků PCL o různých koncentracích jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1 Parametry zvlákňování roztoků PCL.

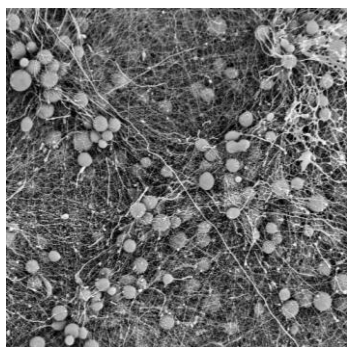
Stanovené parametry elektrostatického zvlákňování	
Průměr jehly	0,9 mm
Vzdálenost hrotu jehly od kolektoru	15 cm
Vlhkost vzduchu okolí spinneru	36%
Teplota vzduchu okolí spinneru	20°C
Rychlost posunu zvlákňovaného polymeru v dávkovači	4 mm/hod
Napětí	15 kV
Koncentrace zvlákňovaného polymeru PCL	14%, 16%, 18%, 20%

Z nanovlákných vrstev PCL o rozdílných koncentracích byly připraveny preparáty určené pro skenovací elektronovou mikroskopii (SEM). Pořízené monochromatické snímky nanovlákných vrstev byly použity jako vstupní obraz pro následující obrazovou analýzu zaměřenou na identifikaci základních kvantitativních charakteristik nanovlákných struktur. Některé charakteristiky byly stanoveny například pomocí snímku nanovlákné vrstvy 14% PCL pořízeném při zvětšení 500x obr. 15(a1) a zvětšení 15000x obr. 15(b1), snímku 16% PCL pořízeném za zvětšení 200x obr. 15(a2) nebo zvětšení 15000x obr. 15(b2). Mezi další zkoumané snímky patřil například snímek 18% PCL pořízený při zvětšení 500x obr. 15(a3) a zvětšení 15000x obr. (b3) dále snímek 20% PCL pořízený při zvětšení 500x obr. (a4) a 10000x obr. (b4). Všechny uvedené obrázky jsou zobrazeny na následující straně. Celá sada pořízených SEM snímků nanovlákných vrstev je k nahlédnutí na přiloženém CD.

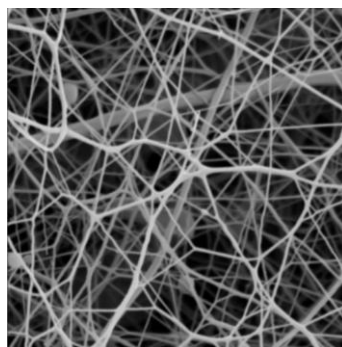
Mezi důležité sledované parametry nanovlákných struktur patří

- poróznost,
- charakteristika defektů vyskytujících se v nanovlákných strukturách,
- orientace vláken,
- průměr vláken.

V následujících podkapitolách jsou přiblíženy jednotlivé parametry nanovlákných vrstev, které byly předmětem zkoumání.



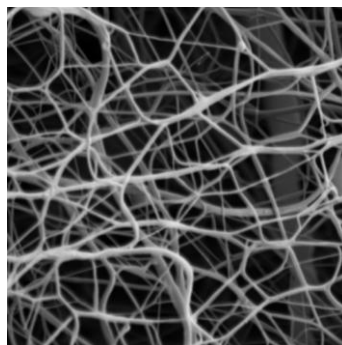
(a1)



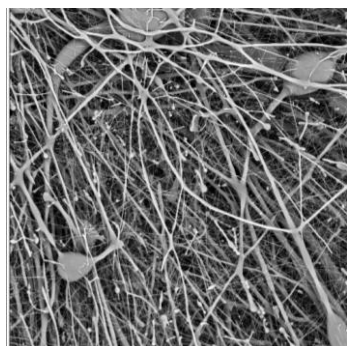
(b1)



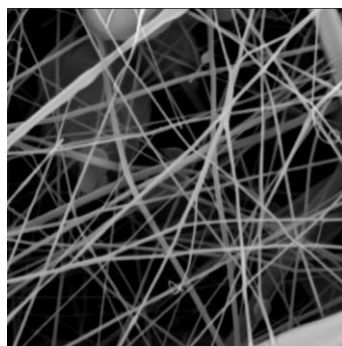
(a2)



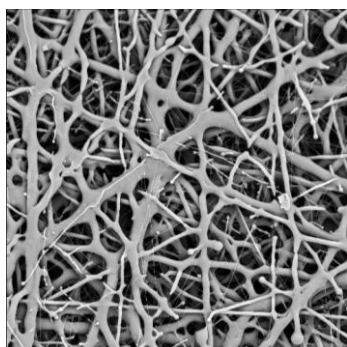
(b2)



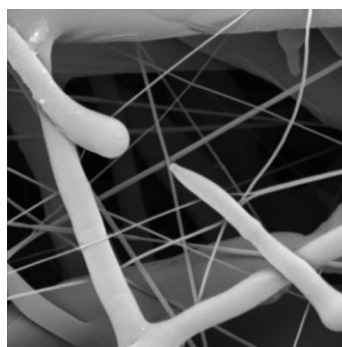
(a3)



(b3)



(a4)



(b4)

Obr. 15 Snímek nanovláknenné vrstvy při zvětšení 500x (a1),(a3), (a4) 14%, 18%, 20% PCL, 16% PCL při zvětšení 200x (a2), (b1)-(b3) snímky o odpovídajících koncentracích při zvětšení 15000x, (b4) pořízený za zvětšení 10000x.

4.1.1 Porózita

Nanovláknennou vrstvu lze i přes její zanedbatelné rozměry považovat za porézní materiál. Porózita je vlastnost nanovláknenných vrstev, která ovlivňuje například prodyšnost a prostupnost jiných medií materiálem. Například v tkáňovém inženýrství je porózita důležitým parametrem ovlivňujícím rychlost růstu buněk a má vliv na enkapsulaci implantátů [28].

Pro určení porózy je nutné definovat, jakou část struktury zabírají vlákna a jakou část zaujímá prázdný prostor, který označujeme jako póry. Poměr těchto dvou složek nazýváme zaplnění [25]. Objemovou definici zaplnění μ_v tedy definujeme dle vztahu

$$\mu_v = V / V_c, \quad (4)$$

kde V je objem vláken a V_c celkový objem výřezu. Zaplnění je bezrozměrné číslo ležící v intervalu $\mu_v \in <0,1>$.

Vzhledem k tomu, že jsou snímky nanovláknenných vrstev pořízeny v 2D podobě, budeme pro určení zaplnění uvažovat plošnou definici zaplnění. Plošné zaplnění μ_s je pak definováno dle rovnice

$$\mu_s = S / S_c, \quad (5)$$

kde S je suma ploch jednotlivých elementů tj. vláken a S_c je celková plocha výřezu. Plošné zaplnění je bezrozměrné číslo ležící v intervalu $\mu_s \in <0,1>$.

Porózita ψ je dle [25] vyjádřena vztahem

$$\psi = V_p / V_c, \quad (6)$$

kde V_p je objem pórů a V_c je celkový objem.

Porózita je chápána jako doplněk k zaplnění. Obecným zaplněním μ charakterizujeme zaplněný prostor, naopak prázdný prostor charakterizujeme porózitou ψ [25]. Vztah mezi porózitou a zaplněním je uveden v rovnici

$$\psi = 1 - \mu. \quad (7)$$

4.1.2 Charakteristika defektů

Na některých snímcích nanovláknenných vrstev PCL o různých koncentracích byly na první pohled patrné defekty kulovitěho tvaru (v literatuře [11] jsou kulovité defekty nanovláknenných vrstev označovány jako perličky). Tyto kulovité defekty vyskytující se v nanovláknenných vrstvách jsou nežádoucí. Vznik defektů je dle práce [1], [11] zapříčiněn nízkou koncentrací polymeru ve zvlákněvaném roztoku, zvýšením koncentrace zpravidla

dochází k zamezení jejich tvorby. Mezi charakteristiky, které byly u defektů vyskytujících se v nanovláknenných strukturách v rámci následující obrazové analýzy sledovány patří

- obsah defektů,
- obvod defektů.

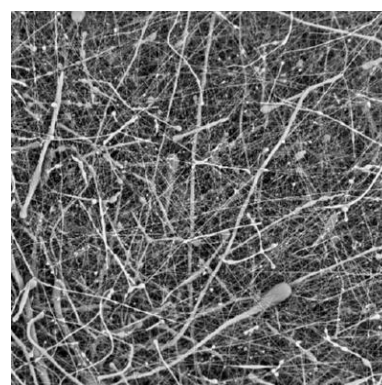
Výskyt defektů kulovitěho tvaru je možné vidět na monochromatickém snímku 14% PCL pořízeného SEM mikroskopií při zvětšení 500x, snímek je uveden na obr. 16(a1), snímek 14% PCL při zvětšení 15000x je uveden na obr. 16(a2). Na obr. 16(b1) je monochromatický snímek 16% PCL pořízený za zvětšení 200x a na obr. 16(b2) za zvětšení 15000x. Na monochromatických snímcích 18% PCL obr. 16(c1) pořízeného při zvětšení 500x a na obr. 16(c2) pořízeného při zvětšení 15000x, je na prvních pohled velmi málo kulovitých defektů.



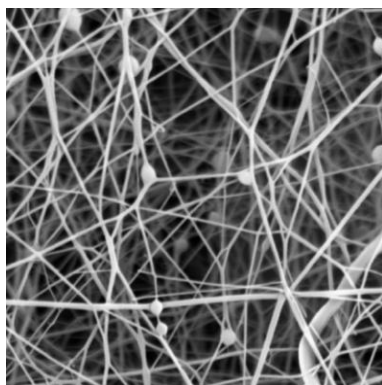
(a1)



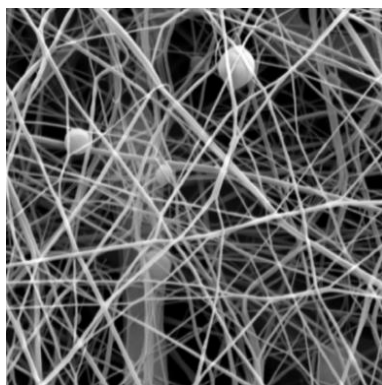
(b1)



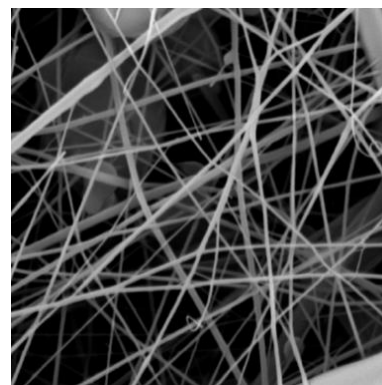
(c1)



(a2)



(b2)



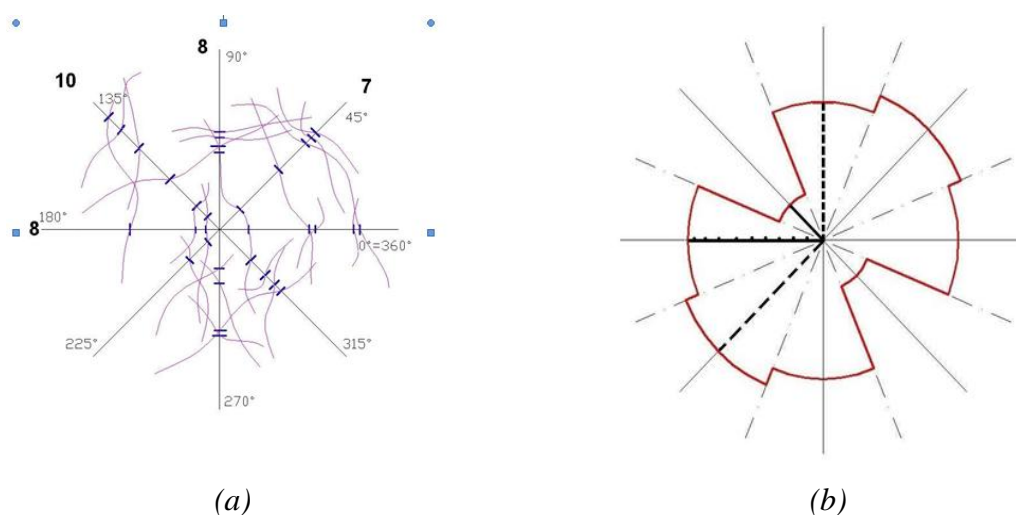
(c2)

Obr. 16 Defekty PCL vláken v závislosti na koncentraci, (a1), (a2) koncentrace 14% PCL, (b1), (b2) koncentrace 16% PCL, koncentrace 18% PCL c1), (c2).

4.1.3 Orientace vláken

Orientace vláken je velmi důležitým parametrem, který ovlivňuje výsledné vlastnosti výchozích struktur. Na orientaci vláken závisí především mechanické vlastnosti, tzn., pokud jsou vlákna plošné či délkové textilie orientovaná v jenom směru, textilie vykazuje v tomto směru vyšší pevnost. Dále orientace vláken ovlivňuje prodyšnost, propustnost a absorpci kapalin vlákenných porézních materiálů.

V práci Rataje a Saxla [26] je uvedena grafická metoda pro odhad směrového uspořádání vláken. Podstatou metody je sestavení texturní funkce, tj. směrové růžice $f(\alpha)$ na základě sítě úhlů α_1 , až α_n umístěných na povrchu sledovaného systému vláken. Průsečíky sítě úhlů se sledovaným vlákenným útvarem jsou znázorněny na obr. 17(a). Dle autorů práce je metoda stabilní pokud je počet úhlů α menší než 18. Výsledkem metody je zachycení směrového uspořádání vláken pomocí směrové růžice zkonstruované na základě grafické interpretace Steinerova kompaktu (konvexní, středově symetrický mnohoúhelník). Směrová růžice je znázorněna na obr. 17(b).



Obr. 17 Průsečíky sítě úhlů se sledovaným vlákenným útvarem (a) [27], směrová růžice (b) [27].

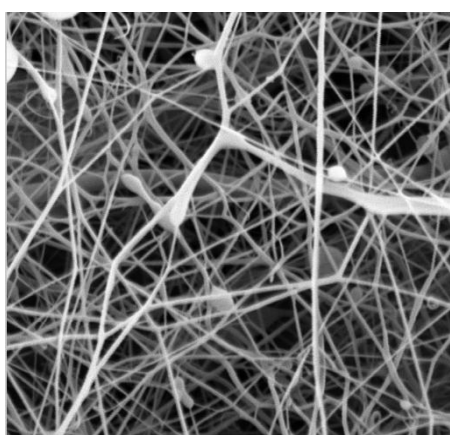
4.1.4 Průměr vláken

Nanovlákna se od všech jiných vláken liší především svou velikostí, která dosahuje řádu nanometrů. Průměr vláken je jedním ze základních strukturních parametrů, od kterého se odvíjí vlastnosti celé vlákenné struktury. Charakteristika průměru nanovláken je převážně stanovována na základě použití obrazové analýzy, která umožňuje měření i velmi malých struktur. Průměr nanovláken je v procesu zvláknování dle [11] ovlivněn například velikostí napětí mezi elektrodami, čím je napětí mezi elektrodami vyšší, tím je z jehly uvolněno více polymeru a vlákna vykazují vyšší průměr.

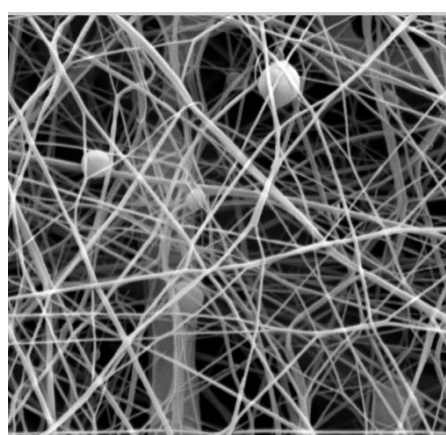
4.2 Extrakce parametrů pórů z nanovláknenných vrstev

Nanovláknennou vrstvu lze i přes její zanedbatelné rozměry považovat za porézní materiál. Poróznost je vlastnost nanovláknenných vrstev, která ovlivňuje například prodyšnost a prostupnost jiných medií materiálem.

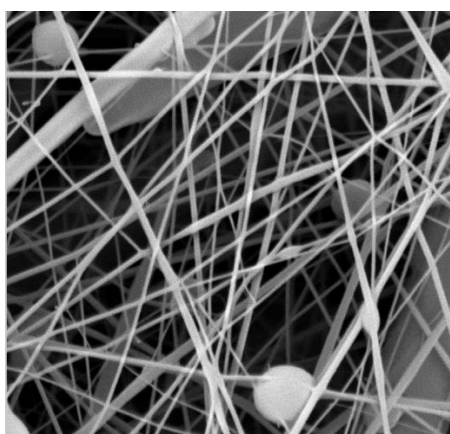
Parametry pórů byly zjišťovány v prostředí programu MATLAB a prostředí programu ImageJ na základě monochromatických snímků PCL nanovláknenných vrstev lišících se koncentrací pořízených skenovací elektronovou mikroskopií. Mezi zkoumané snímky patří obraz 14% PCL o velikosti 1024x1024 pixelů obr. 18(a), obraz 16% PCL o velikosti 1024x1024 pixelů obr. 18(b), obraz 18% PCL obr. 18(c) o rozměrech 1024x1024 pixelů a obraz 20% PCL o velikosti 512x512 pixelů obr. 18(d).



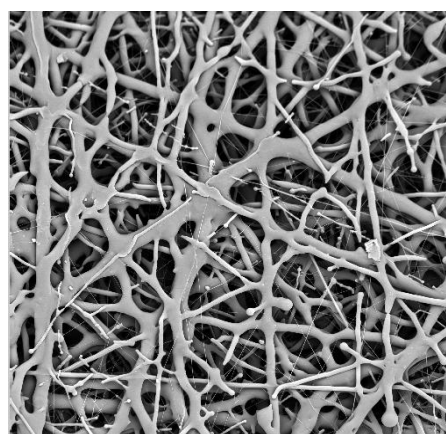
(a)



(b)



(c)



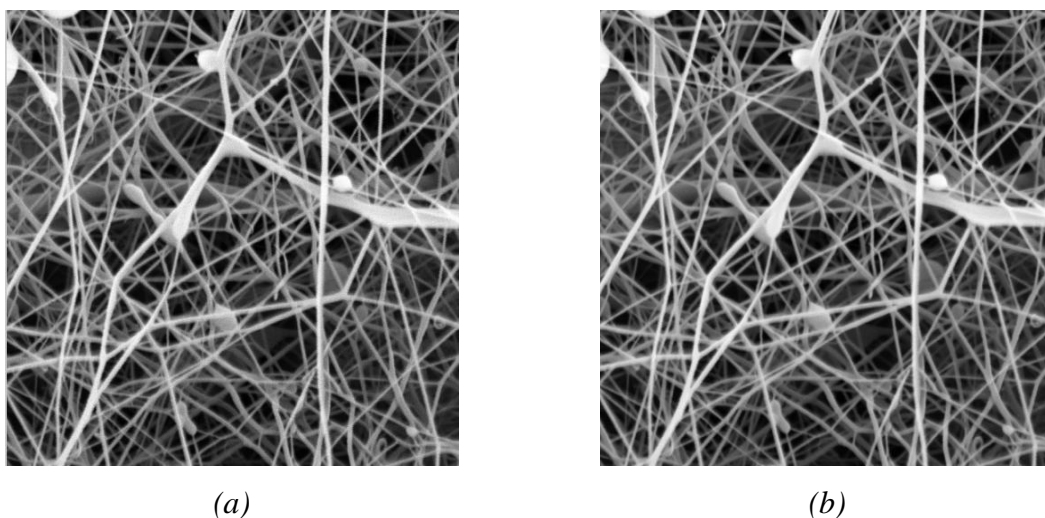
(d)

Obr. 18 Vstupní monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20% PCL (d).

4.2.1 Metodika stanovení parametrů pórů v programu MATLAB

V prostředí programu MATLAB bylo stanovení parametrů nanovláknenných pórů realizováno na základě navrženého algoritmu, vycházejícího především ze segmentace obrazu. Pomocí vhodného zpracování vstupních monochromatických snímků bylo možné segmentovat objekty, které prezentují póry a stanovit jejich základní charakteristiky. Posloupnost jednotlivých kroků vedoucích k zjištění základních charakteristik pórů je uvedena níže.

Jak bylo uvedeno dříve, důležitou částí obrazové analýzy je předzpracování obrazu, jehož cílem je upravit vstupní obraz pro následující kroky vedoucí k získání kvantitativních informací o hledaných objektech. Jako vstupní obraz byl pro demonstrování metody stanovení poróznosti zvolen snímek 14% PCL o velikosti 1024x1024 pixelů, uvedený na obr. 19(a). Úprava obrazu spočívala v odstranění šumu vstupního obrazu. Šum byl z obrazu odstraněn aplikací prostorového mediánového filtru o rozměrech masky 3x3 pixely. Obraz, na který byl aplikován mediánový filtr je znázorněn na obr. 19(b).

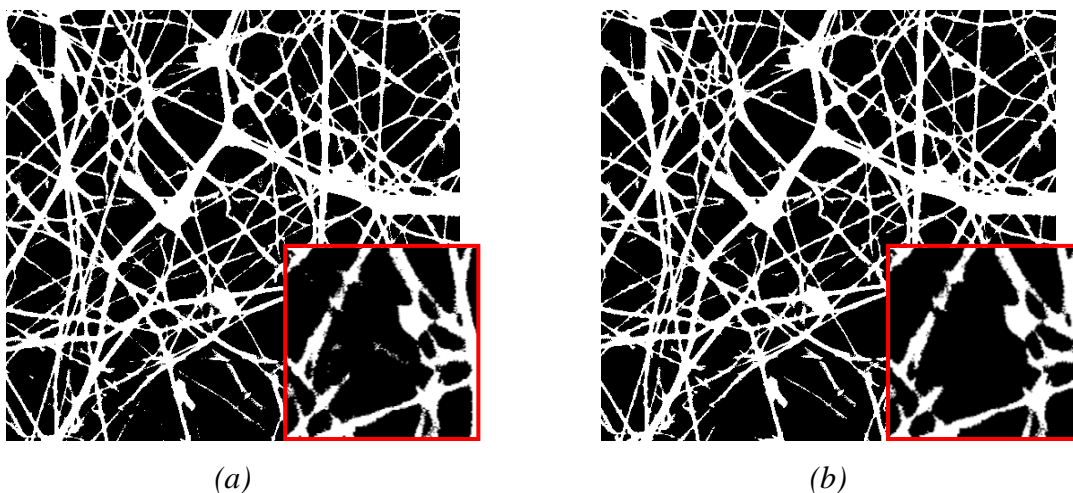


Obr. 19 Vstupní obraz nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), obraz po odstranění šumu (b).

V části segmentace byl vstupní obraz převeden na binární za použití prahování. Prahováním došlo k oddělení vrchní vrstvy nanovláken od pozadí a spodních vrstev vláken. Pro ukázkový i ostatní zkoumané obrazy byla zvolena jednotná hodnota prahu 130, vzniklý binární obraz je k nahlédnutí na obr. 20(a).

Dalším krokem bylo odstranění malých objektů z obrazu, které je možné chápat jako šum. Tyto útvary nemají vypovídající hodnotu o hledaných parametrech, pokud bychom je v obrázku ponechali a dále analyzovali, vedlo by to ke zkresleným výsledkům.

Použitím implementované morfologické funkce určené k odstranění definovaných objektů z obrazu je možné z binárního snímku nanovláknenné vrstvy odstranit všechny objekty, které se neskládají z minimálního argumentovaného počtu pixelů. Ze všech snímků byly odstraněny objekty, které se skládají z méně než 30 pixelů, obr. 20(b).

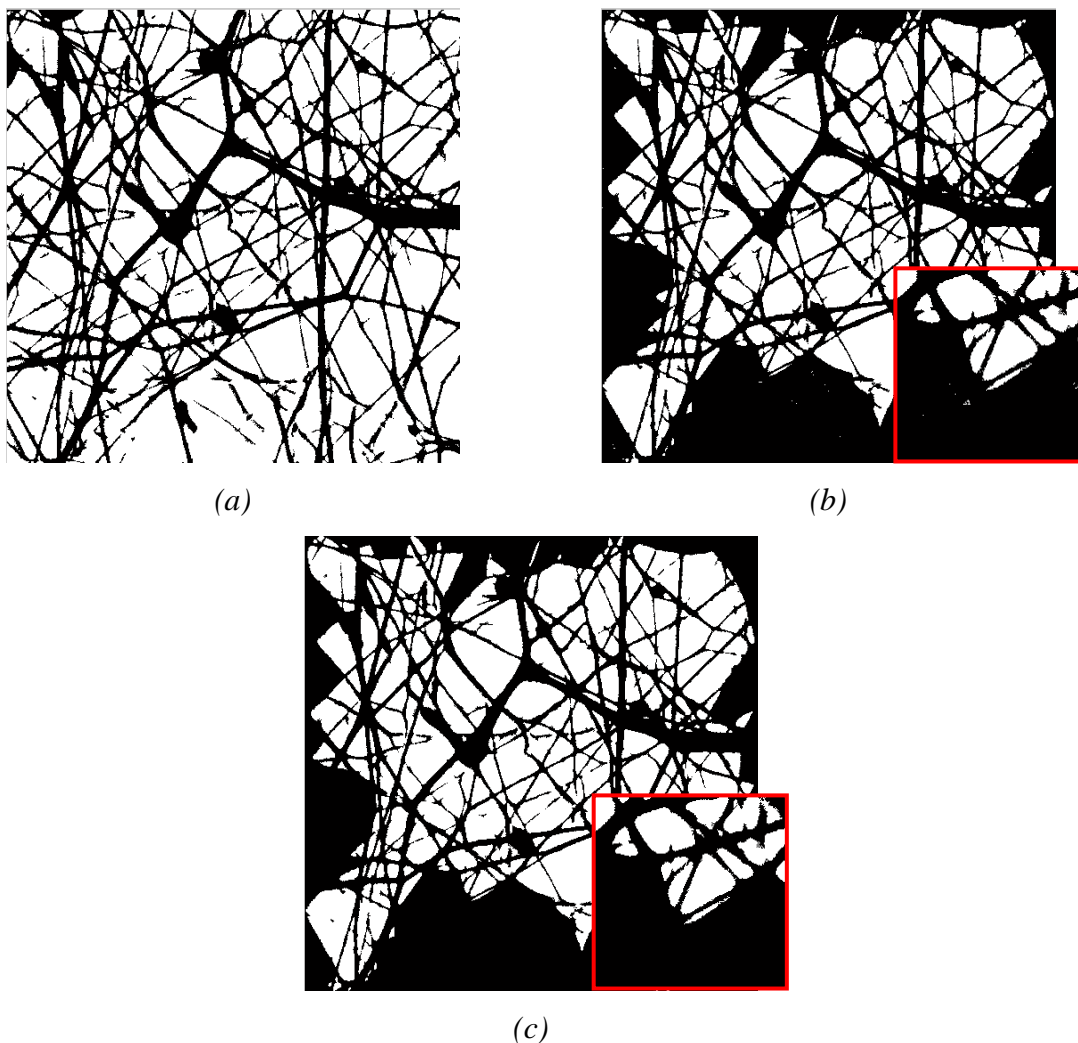


Obr. 20 Binární obraz 14% PCL (a), obraz po odstranění malých objektů (b).

Jak již bylo zmíněno, bílá barva reprezentuje objekty tj. vlákna a barva černá pozadí tj. mezivláknenné póry. Mezivláknenné póry je pro stanovení jejich parametrů nutné transformovat na objekty. Toho je možné docílit pomocí převodu na tzv. „negativ“, který je zobrazen na obr. 21(a).

Pro získání objektivních informací z obrazu nanovláknenných struktur bylo nutné potlačit nekompletní objekty spojené s hranicí obrazu, obr. 21(b). Tímto krokem bylo zamezeno získání zkreslených kvantitativních charakteristik.

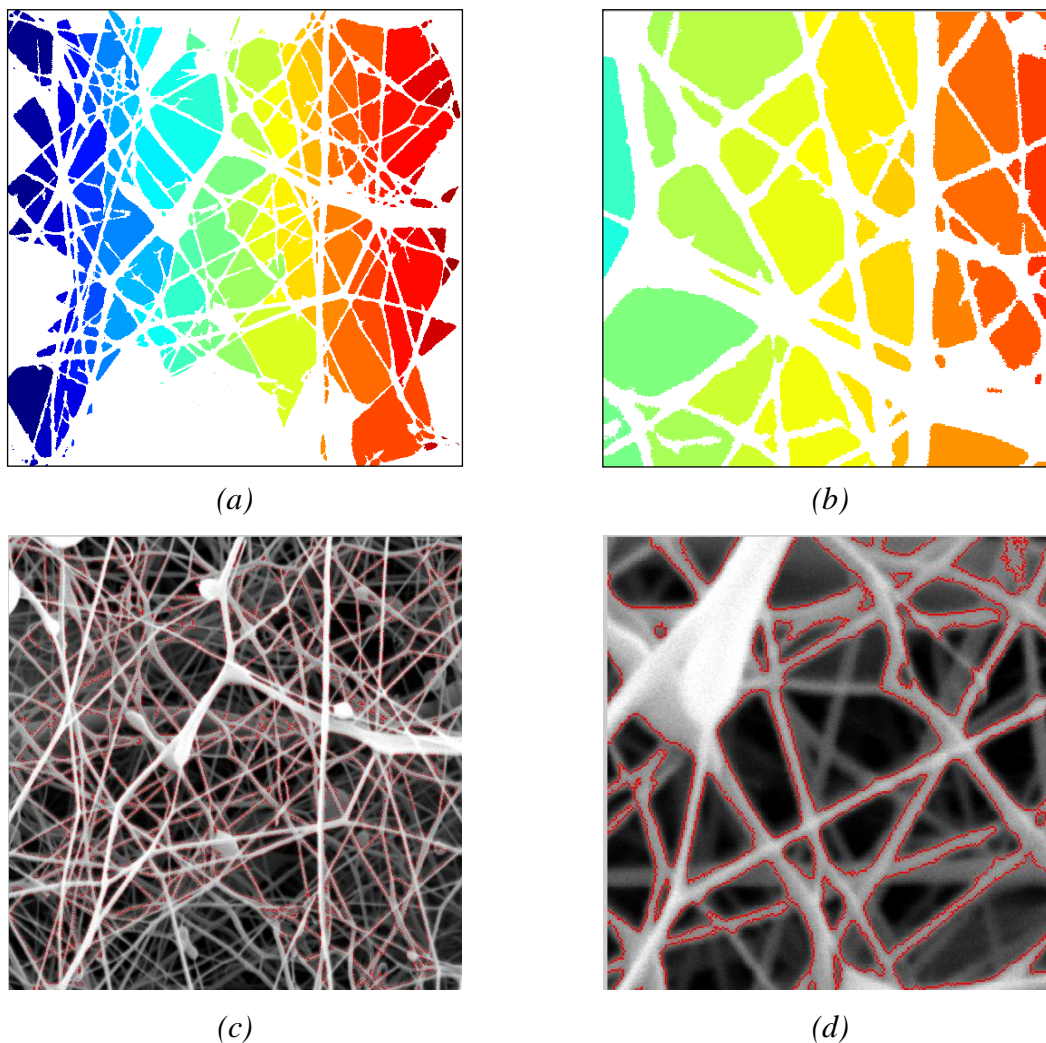
V dříve morfologicky upraveném binárním obraze byly stále viditelné malé objekty, které byly použitím zaimplementované funkce opětovně odstraněny. Ponechány byly všechny objekty větší než 30 pixelů. Takto upravený binární obraz nanovláknenné vrstvy uvedený na obr. 15(c) byl použit pro získání základních informací o pórech.



Obr. 21 Obraz převedený na negativ (a), potlačení struktur dotýkajících se hranic obrazu (b), obraz po odstranění malých objektů (c).

Informace o počtu a velikosti pórů bylo možné získat prostřednictvím vytvořené matice o stejných rozměrech jako vstupní obraz, ve kterém jsou pomocí indexů 1 až n označeny jednotlivé objekty (oblasti zájmu). Pixely označené číslem 1 značí jeden region, pixely označené číslem 2 region druhý atd. V prostředí programu MATLAB je možné graficky znázornit jednotlivé regiony přiřazením barvy z RGB spektra, obr. 22(a) a (b).

Vykreslení obvodů pórů v původním monochromatickém obraze je uvedeno na obr. 22(c),(d).



Obr. 22 Vykreslené objekty v RGB (a), (b), grafické znázornění hranic pórů v původním obraze (c) a (d).

Uvedený postup stanovení základních parametrů pórů se dá snadno interpretovat pomocí algoritmu skládajícího se z několika kroků. Sled jednotlivých kroků navrženého algoritmu spolu s uvedenými zaimplementovanými funkcemi využitými v prostředí programu MATLAB je uveden v následujícím textu. Použité zaimplementované funkce jsou a jejich výklad je uveden v příloze 1. Skript určený k vyhodnocení parametrů mezivlákněných pórů je přiložen v příloze 2.

- Odstraň šum vstupního obrazu použitím mediánového filtru (`medfilt2.m`).
- Převed' vstupní obraz na binární, použij operaci prahování, hodnotu prahu T nalezni experimentálně (`im2bw.m`).
- Odstraň malé objekty z obrazu (`bwareaopen.m`).

- Potlač struktury dotýkající se hranic obrazu (`imclearborder.m`).
- Převed' pixely nesoucí informaci 1 na 0 a naopak, (vytvoř negativ obrazu).
- Detekuj jednotlivé regiony, vytvoř vstupní matici pro získání informací o objektech (`bwlabel.m`).
- Detekuj hranice pórů, vykresli je do vstupního obrazu (`imerode.m`).
- Proveď kalibraci, převed' pixely jednotlivých regionů na mikrometry.
- Vypočítej parametry jednotlivých regionů, vyhodnot' parametry pórů celého obrazu (`regionprops.m`).

4.2.2 Výsledky metodiky stanovení parametrů pórů v MATLABU

Pomocí zaimplementované funkce je možné určit sadu vlastností pro jednotlivé objekty, jejichž velikost byla získána vytvořením matice, ve které jsou jednotlivé objekty reprezentovány pomocí příslušných indexů. K zjištění parametrů pórů byla použita vlastnost `Area` a `Perimeter`. Pomocí `Area` byl určen skutečný počet pixelů v jednotlivých regionech. Použitím `Perimeter` byl získán obvod jednotlivých pórů v pixelech. Velikosti jednotlivých parametrů v pixelech nemají reálnou vypovídající hodnotu o vlastnostech pórů, z tohoto důvodu bylo nutné provést kalibraci výsledků měření. Pro jednotlivé snímky byly určeny kalibrační vztahy. Kalibrační vztahy byly stanoveny jako poměr přímky měřítka uvedeného v obraze a skutečného počtu pixelů, tvořících přímku měřítka. Kalibrační vztahy pro převod pixelů na mikrometry u jednotlivých zkoumaných monochromatických snímků PCL v závislosti na koncentraci jsou uvedeny v tabulce tab. 2.

Tab. 2 Kalibrační vztahy pro jednotlivé snímky v závislosti na koncentraci.

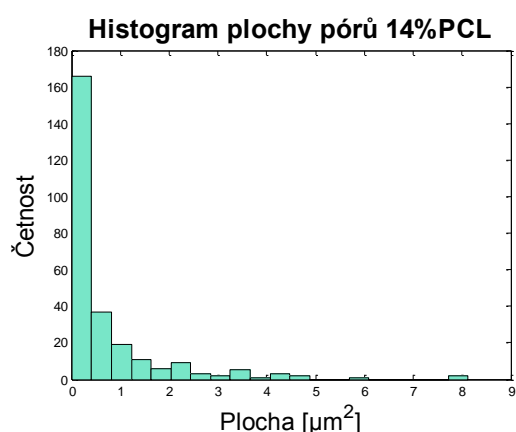
Koncentrace	Kalibrační vztah
14% PCL	1 pixel = 0.0195 μm
16% PCL	1 pixel = 0.0195 μm
18% PCL	1 pixel = 0.0195 μm
20% PCL	1 pixel = 0.588 μm

Průměrná plocha a obvody pórů získaných obrazovou analýzou monochromatických snímků PCL nanovlákných vrstev pořízených v závislosti

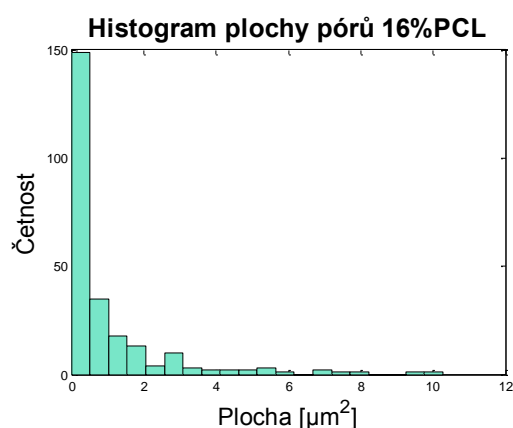
na koncentraci polymerních roztoků, jsou uvedeny v tab. 3. Histogramy četností velikostí ploch pórů v závislosti na jednotlivých koncentracích PCL jsou uvedeny na obr. 23(a)-(d), na obr. 24(a)-d), jsou uvedeny histogramy četnosti obvodů pórů v závislosti na koncentraci PCL.

Tab. 3 Průměrná plocha a obvod pórů v závislosti na koncentraci PCL.

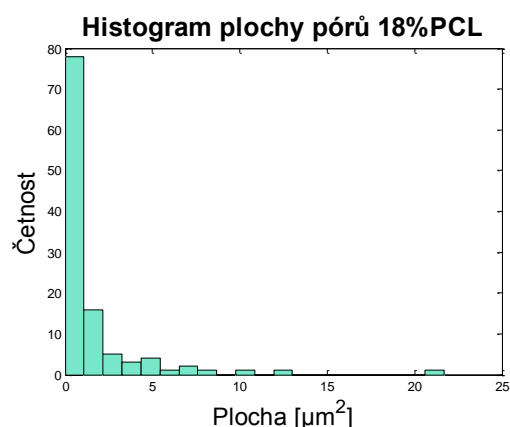
Koncentrace	Počet pórů	Celková plocha [μm^2]	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Poróznost [%]	Průměrný obvod [μm]	Std [μm]
14 PCL [%]	266	180.78	0.67	1.09	45	3.25	3.13
16 PCL [%]	248	238.88	0.96	1.58	59	3.99	3.85
18 PCL [%]	116	160.07	1.37	2.79	40	4.95	5.55
20 PCL [%]	124	31757	256.11	331.79	35	85.11	84.98



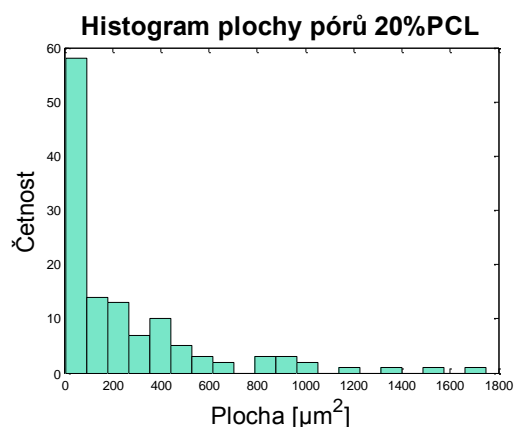
(a)



(b)

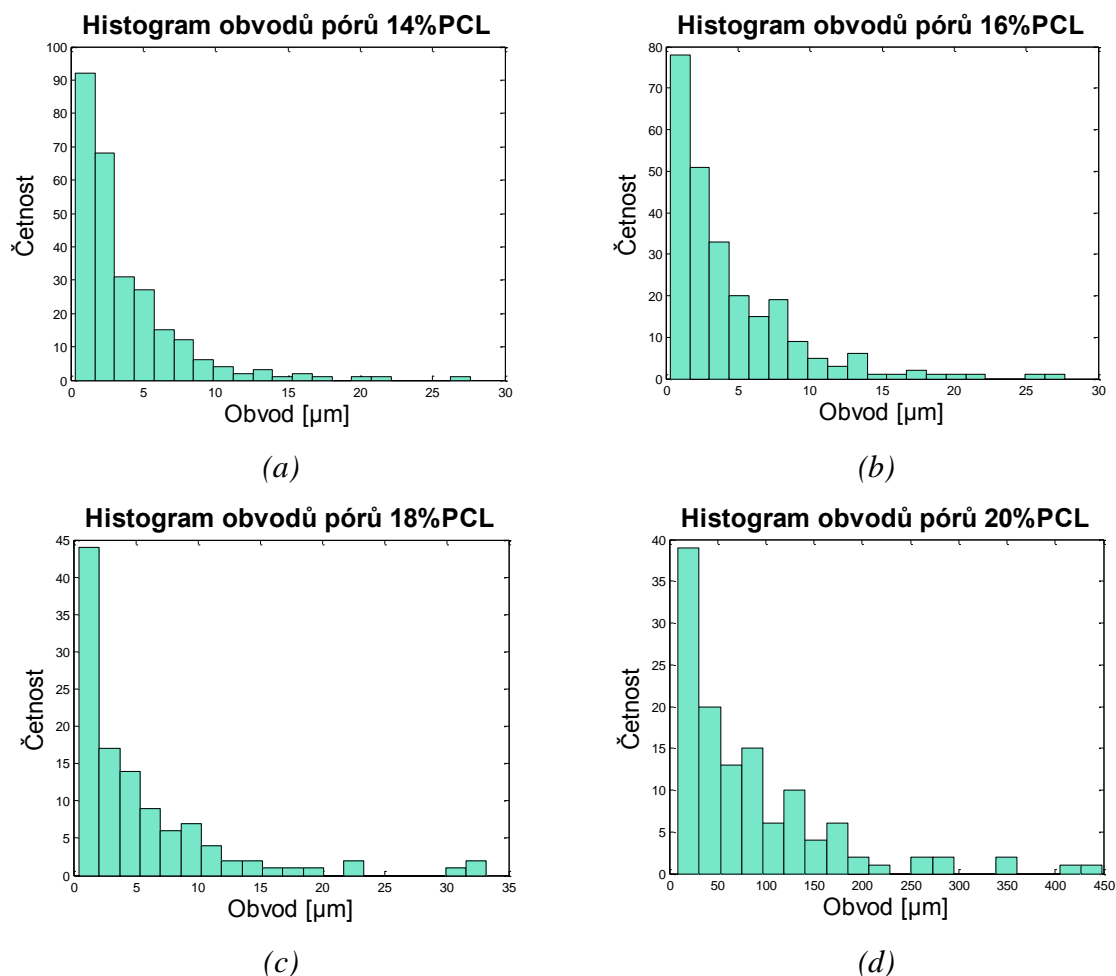


(c)



(d)

Obr. 23 Histogram četnosti velikosti ploch pórů 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20% PCL (d).



Obr. 24 Histogram četnosti obvodů pórů 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20% PCL (d).

Poróznost nanovláknenných vrstev byla stanovena na základě plošné interpretace dříve uvedeného vztahu (6). Dle tohoto vztahu byla poróznost jednotlivých snímků nanovláknenných vrstev stanovena jako podíl sumy všech bílých pixelů obrazu reprezentujících plochy pórů a celkového obsahu obrazu. Ze získaných výsledků poróznosti uvedených v tabulce 3 lze usoudit, že koncentrace má vliv na poróznost nanovláknenných vrstev, poróznost zkoumaných nanovláknenných vrstev se v závislosti na koncentraci zvlákněného polymeru lišila.

Stanovení parametrů pórů na základě obrazové analýzy provedené v prostředí programu MATLAB je snadný proces založený na segmentaci obrazu. Na základě zjištěných výsledků nelze jednoznačně říci, že koncentrace 14%, 16%, a 18% PCL zvlákněvaného roztoku ovlivňuje velikost mezivláknenných pórů. Výsledky zjištěné aplikací metody se lišily pouze v případě mezivláknenných pórů 20% PCL, které byly na rozdíl od ostatních výsledků zhruba 200x větší. Velikosti pórů zkoumaných snímků

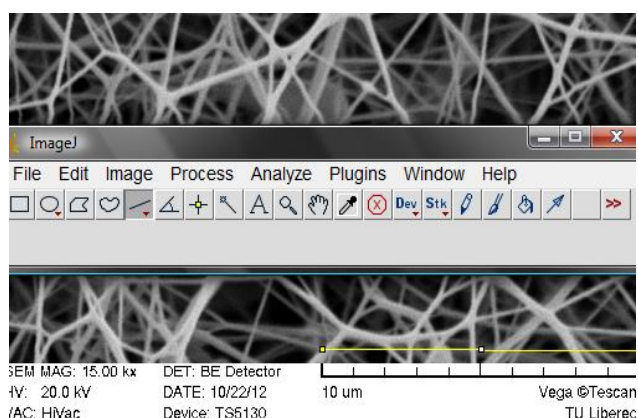
nanovlákněných vrstev je velmi různorodá, průměrné velikosti pórů vykazují vysoké směrodatné odchylky.

4.2.3 Metodika stanovení parametrů pórů v programu ImageJ

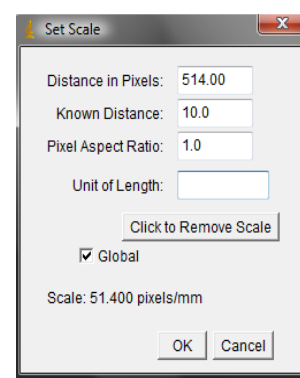
Stejně jako tomu bylo při stanovení parametrů pórů v prostředí programu MATLAB, tak i v prostředí programu ImageJ byl proces analýzy demonstrován na vstupním monochromatickém snímku 14% PCL o rozměrech 1024x1024 pixelů zobrazeném dříve na obr. 18(a). V následujícím textu jsou popsány jednotlivé kroky analýzy obrazu v prostředí programu ImageJ.

Analyze → Set Scale

Prvním krokem, který následoval po načtení snímku 14%PCL do pracovního prostředí programu ImageJ byla kalibrace, jejímž cílem je převést pixely obrazu do reálných jednotek. Ke kalibraci slouží v nabídce *Analyze* příkaz *Set Scale*. Před použitím příkazu *Set Scale* bylo nutné zjistit délku kalibrační přímky nacházející se na snímku. Délka kalibrační přímky byla stanovena použitím *Straight Line Selection* – nástroje přímky uvedeného na obr. 25(a), nacházejícího se v nabídce nástrojů Toolbaru. Délka kalibrační přímky v pixelech (*Distance in Pixels*) byla pomocí vytvořené přímky po vyvolání příkazu *Set Scale* automaticky zapsána do tabulky uvedené na obr. 25(b), délka v reálných jednotkách (*Know Distance*) byly zapsána manuálně. Dále je možné nastavit například jednotku (*Unit of Length*).



(a)



(b)

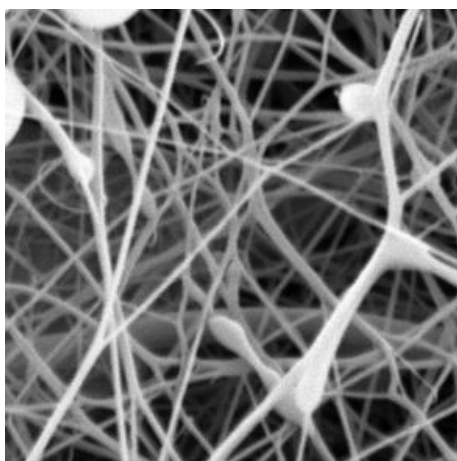
Obr. 25 Vytvořená kalibrační přímka v obraze (a), kalibrační dialogové okno (b).

Image → Crop

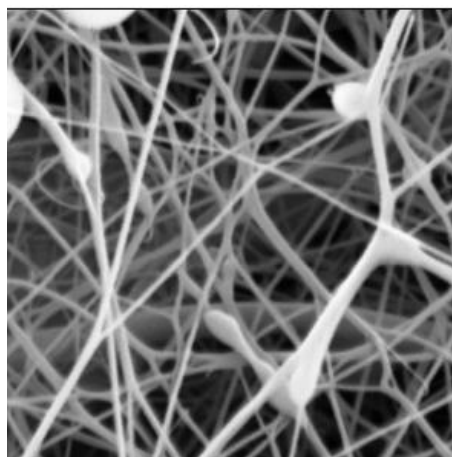
Pomocí příkazu *Crop* v nabídce *Image* je možné vstupní obraz manuálně ořezat na velikost 1024x1024 pixelů. Výběr obrazu, který měl být ponechán, byl označen nástrojem *Rectangular selections* nacházejícím se na hlavním Toolbaru.

Process → Noise → Despeckle

Použitím příkazu *Despeckle* nacházejícím se v kategorii *Noise* nabídky *Process* došlo k odstranění šumu ze vstupního obrazu uvedeného na obr. 26(a). K odstranění šumu byla použita lineární filtrace využívající metodu mediánového filtru. Princip mediánové filtrace obrazu spočívá v nahrazení každého pixelu obrazové funkce mediánem z jeho okolí o rozměrech 3x3 pixelů. Filtrovaný obraz je uveden na obr. 26(b).



(a)



(b)

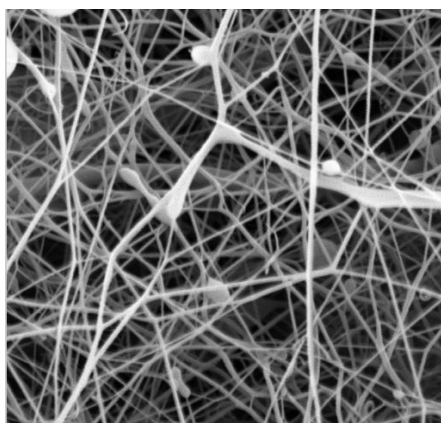
Obr. 26 Vstupní monochromatický obraz nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), filtrovaný obraz (b).

Image → Adjust → Threshold

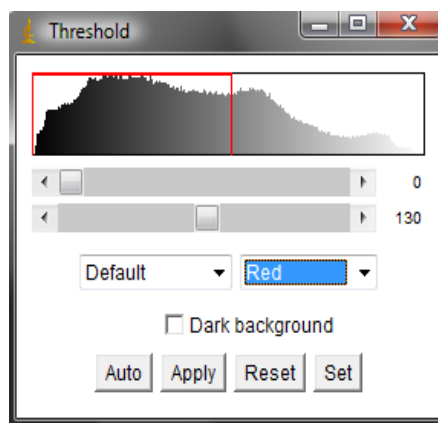
Program ImageJ má opačné chápání objektů a pozadí než jak je tomu v prostředí programu MATLAB. ImageJ považuje za objekty oblasti charakterizované černou barvou, bílou barvou je reprezentováno pozadí. Pomocí příkazu *Threshold* došlo k převodu šedotónového obrazu znázorněného na obr. 27(a), na binární obraz, za použití prahové hodnoty o úrovni šedi 130. Výsledný binární obraz je zobrazen na obr. 27(c). Prahová hodnota byla nastavena v dialogovém okně *Threshold* zobrazeném na obr. 27(b) pomocí histogramu úrovně šedi vstupního obrazu.

Process → Binary → Fill Holes

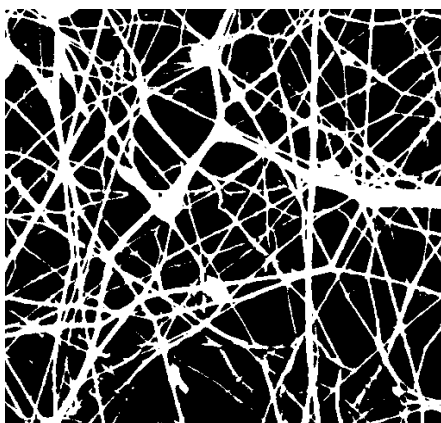
Použitím příkazu *Fill Holes* došlo k morfologické změně objektů v obraze, kterou je zaplnění vyskytujících se děr, obraz po vyplnění děr je uveden na obr. 27(d). Princip vyplnění děr v objektech je založen na převodu bílých pixelů pozadí v černých objektech na černé pixely objektů.



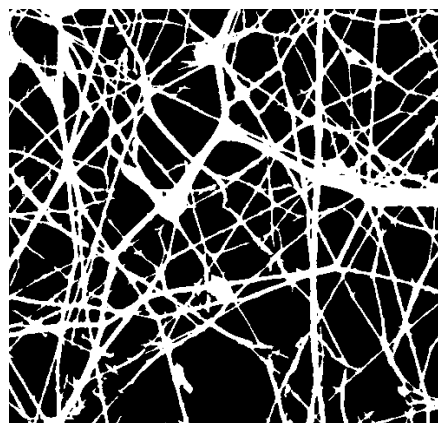
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 27 Vstupní obraz (a), dialogové okno *Threshold*(b), binární obraz (c), obraz s vyplněnými dírami (d).

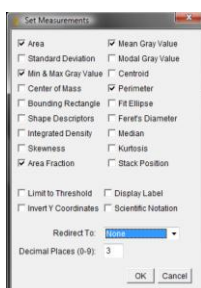
Analyze → Set Measurements

Pomocí dialogového okna *Set Measurements* uvedeného na obr. 28(a) je možné určit, která měření budou na binárním obraze realizována. V našem případě mezi hodnocené vlastnosti patří

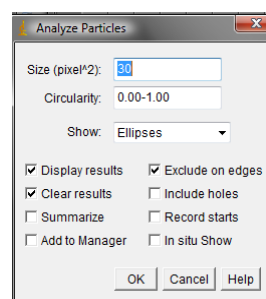
- *Area* - plocha objektů,
- *Perimeter* - délka vnější hranice objektů,
- *Area Fraction* - procento nenulových pixelů.

Analyze → Analyze Particles

Příkaz *Analyze Particles* v nabídce *Analyze* slouží k měření velikostí objektů v binárním obraze. Princip tohoto příkazu spočívá v procházení obrazu pixel po pixelu za účelem nalezení objektů, až je objekt nalezen, jsou vyznačeny jeho hranice, a je mu přidělen pořadový index od 1 do n . V dialogovém okně tohoto příkazu obr. 28(b) je možné nastavit nevyhodnocení údajů o nekompletních objektech, které se dotýkají obrazové hranice zatržením řádku *Exclude on Edges*. Další nabídkou dialogového okna je potlačení vyhodnocení oblastí o libovolně definovatelné velikosti pixelů (Size pixel^2), v našem případě nebyly vyhodnoceny všechny objekty menší než 30 pixelů.



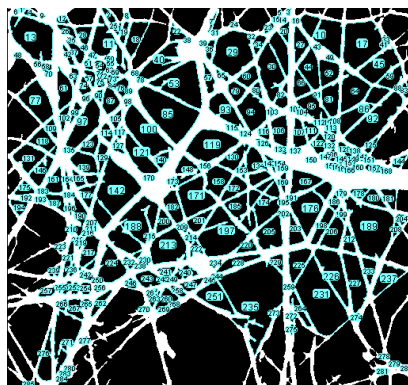
(a)



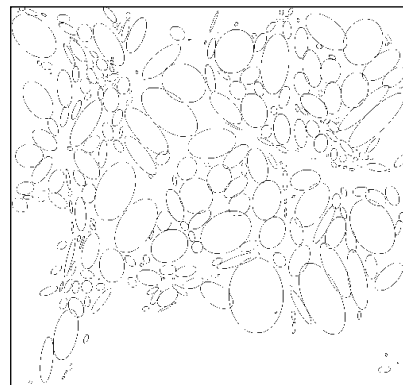
(b)

Obr. 28 Dialogové okno *Set Measurements* (a), dialogové okno *Analyze particles* (b).

Pro lepší orientaci v detekovaných pórech nanovláknenných struktur je možné vykreslit obvoody objektů (*Show Outlines*), znázorněno na obr. 29(a) nebo nahradit objekty nejvhodnějšími elipsami popisujícími tvar pórů (*Show Ellipses*), elipsa má stejnou plochu, orientaci a těžiště jako pór, který reprezentuje. Ukázka takovéto interpretace pórů prostřednictvím elipsy je uvedena na obr. 29(b).



(a)



(b)

Obr. 29 Vykreslené hranice objektů (a), znázornění objektů elipsami (b).

Analyze → Summarize

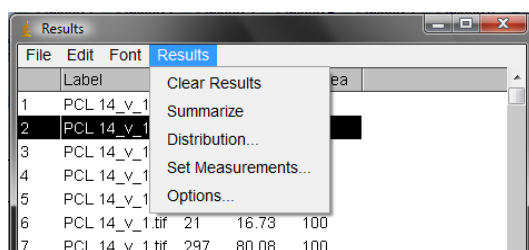
Příkaz *Summarize* v nabídce *Analyze* spočítá průměr, směrodatnou odchylku, minimální a maximální hodnotu provedených měření zadaných parametrů nastavených v dialogovém okně *Set Measurements*. Výsledky vyhodnocení základních charakteristik nanovlákněných pórů v prostředí programu ImageJ jsou uvedeny v tabulce 4.

Tab. 4 Výsledky vyhodnocení parametrů nanovlákněných vrstev v ImageJ.

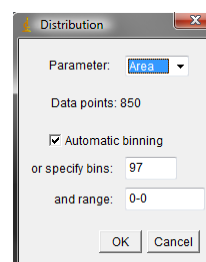
Koncentrace	Počet pórů	Celková plocha [μm^2]	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Poróznost [%]	Obvod [μm]	Std [μm]
14 PCL [%]	253	175.60	0.69	1.10	45	3.35	3.08
16 PCL [%]	238	237.23	1.00	1.61	60	4.10	3.81
18 PCL [%]	110	159.01	1.45	2.84	40	5.18	5.53
20 PCL [%]	117	31008.18	265.03	325.24	35	89.06	82.74

Results → Distribution

Z důvodu lepší orientace ve zjištěných výsledcích je možné, stejně jako v programu MATLAB zobrazit histogram četností naměřených veličin. Histogram četností je vyvolán v nabídce *Results* dialogového okna *Results*, které je zobrazené na obr. 30(a), v dialogovém okně jsou zaznamenány jednotlivé naměřené hodnoty parametrů, které byly dříve určeny k vyhodnocení. Histogram je vytvořen prostřednictvím rozhraní *Distribution* uvedeném na obr. 30(b). V tomto rozhraní je možné nastavit parametr, který má být histogramem interpretován a také počet intervalů histogramu, do kterých mají být naměřené hodnoty daného parametru rozděleny.



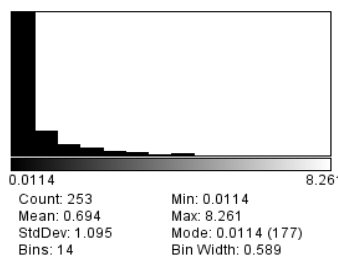
(a)



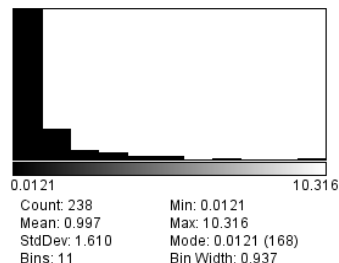
(b)

Obr. Dialogové okno *Results* (a), Dialogové okno *Distribution* (b).

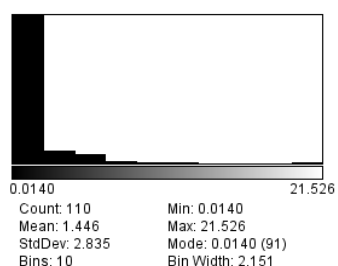
Na následujícím obr. 31(a)-(d) jsou zobrazeny histogramy naměřených ploch pórů a na obr. 32(a)-(d) jsou zobrazeny histogramy obvodů pórů jednotlivých nanovláknenných vrstev v závislosti na koncentraci zvláknňovaného PCL roztoku.



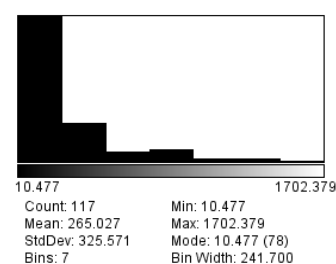
(a)



(b)

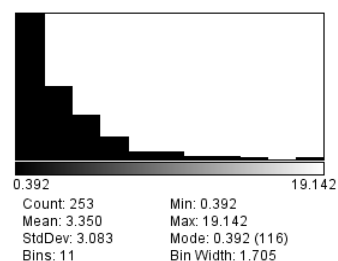


(c)

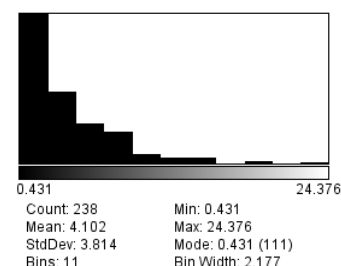


(d)

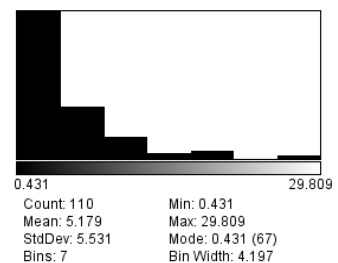
Obr. 31 Histogram ploch pórů snímku nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c), 20% PCL (d).



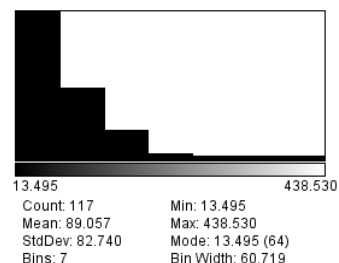
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 32 Histogram obvodů pórů snímku nanovláknenné vrstvy 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL.

Klasifikace mezivláknenných pórů v prostředí programu ImageJ je jednoduchým, uživatelsky snadným způsobem stanovení tohoto parametru nanovláknenné vrstvy. Stručné shrnutí jednotlivých posloupných kroků použitých v prostředí programu ImageJ k určení parametrů pórů je uvedeno v příloze 7.

4.3 Zhodnocení extrakce parametrů pórů z nanovláknenných vrstev

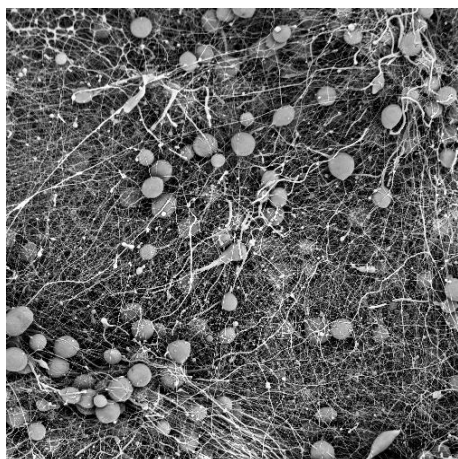
Na základě uvedených výsledků měření základních charakteristik pórů, jakými je jejich plocha, obvod a poróznost můžeme říci, že se zjištěné parametry nanovláknenných vrstev vyhodnocené v programu MATLAB a programu ImageJ shodují.

Vyhodnocení parametrů pórů je v programu MATLAB stejně tak jako vyhodnocení v prostředí programu ImageJ založeno na segmentaci obrazu. Stanovení výsledků v ImageJ je pro uživatele snadnější, v programu MATLAB je uživatel nucen vytvořit algoritmus. Výhodou programu MATLAB je dobrá reprodukovatelnost a možnost relativně snadné a přehledné interpretace výsledků pomocí více statistických nástrojů než pouze za použití histogramu.

4.4 Detekce parametrů defektů nanovláknenných vrstev

Jak bylo řečeno dříve, na pořízených snímcích nanovláknenných vrstev jsou viditelné nežádoucí kulovité útvary – defekty, způsobené nízkou koncentrací PCL ve zvlákněvaném roztoku. Parametry těchto defektů byly v prostředí programu MATLAB a v prostředí programu ImageJ zjišťovány dvěma rozdílnými způsoby. První způsob vyhledává defekty za použití korelační metody. Druhý způsob je založen na víceúrovňovém prahování. Aplikace a výsledky jednotlivých metod jsou uvedeny níže.

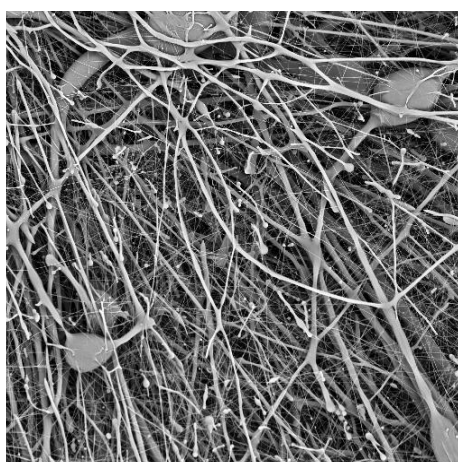
Obě metody stanovení základních parametrů defektů byly aplikovány na čtyřech snímcích PCL nanovláknenných vrstev o jednotné velikosti 512x512 pixelů. Zkoumané vrstvy se lišily koncentrací PCL ve zvlákněvacím roztoku. V experimentu byly zkoumány snímky nanovláknenných vrstev o koncentracích 14% PCL obr. 33(a), 16% PCL obr. 33(b) a 18% PCL obr. 33(c). Jak uvedeno dříve, výskyt defektů v nanovláknenné vrstvě je závislý na koncentraci zvlákněvaného roztoku. Ve snímku nanovláknenné vrstvy o koncentraci 20% PCL obr. 33(d), nejsou na první pohled přítomny žádné defekty.



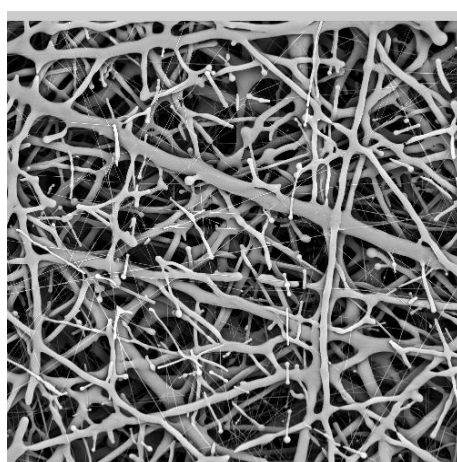
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 33 Monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b) 18% PCL (c) 20% PCL (d).

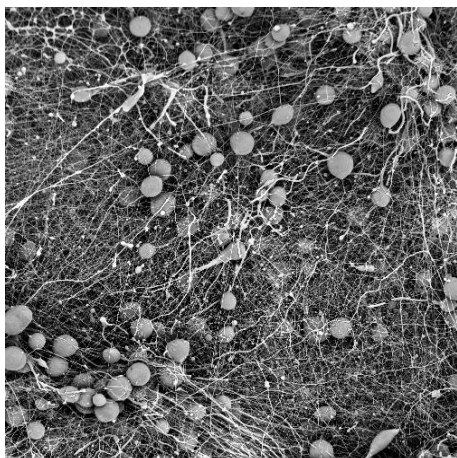
4.4.1 Metodika stanovení parametrů defektů korelační metodou v MATLABU

Podstatou metody detekce objektů pomocí korelace je najít všechna místa v obraze $f(x,y)$, která se shodují s podobrazem tzv. šablonou $w(x,y)$. V našem případě byly pomocí této metody hledány ve vstupním obraze defekty kulovitého tvaru. Jako vyhledávací šablona byl nejdříve zvolen výřez defektu ze vstupního obrazu, pro snadnější interpretaci na více snímcích byla následně vytvořena univerzální šablona, ve které byl vykreslen kruhový objekt o průměru shodujícím se s průměrem defektů. Typická šablona $w(x,y)$ je mnohem menší než zkoumaný obraz $f(x,y)$. Princip metody spočívá v použití šablony w jako prostorového filtru, kterým je pixel po pixelu procházen a korelován celý vstupní obraz. Na základě zjištěné korelace mezi vstupním obrazem a šablonou lze detekovat

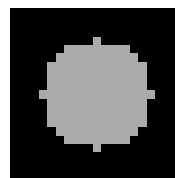
hledané defekty jako místa s největší shodou w a f . Místa ve kterých byly nalezeny defekty se vyznačují nejsvětlejšími odstíny šedi v korelovaném obraze [21].

V práci byla metoda srovnání korelovaného obrazu se vzorem použita pro vyhledávání defektů v nanovlákněné vrstvě. Zkoumaný ilustrativní obraz 14% PCL o velikosti 500x500 pixelů je uveden na obr. 34(a).

Prvním krokem bylo vytvoření šablony, na základě které došlo k vyhledání tvarově podobných objektů. Defekty jsou charakteristické jejich kulovitým tvarem, z tohoto důvodu byla univerzální šablona vytvořena jako strukturní prvek ve tvaru kruhu o poloměru 6 pixelů. Vzniklému strukturnímu prvku byly přidány na začátku a na konci všech řádků a sloupků 3 pixely tvořící pozadí. Na základě informace o intenzitě šedi hledaných defektů, která se pohybuje v intervalu od 155 do 185, byla vytvořená šablona převedena z binární podoby do šedotónové, všechny objektové pixely nesoucí informaci 1 se staly pixely o intenzitě šedi rovné 170. Vytvořená šablona je uvedena na obr. 34(b).



(a)

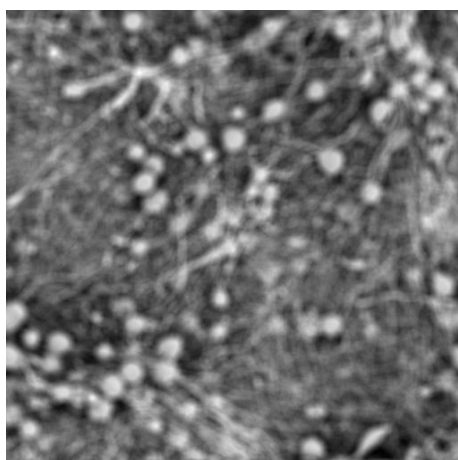


(b)

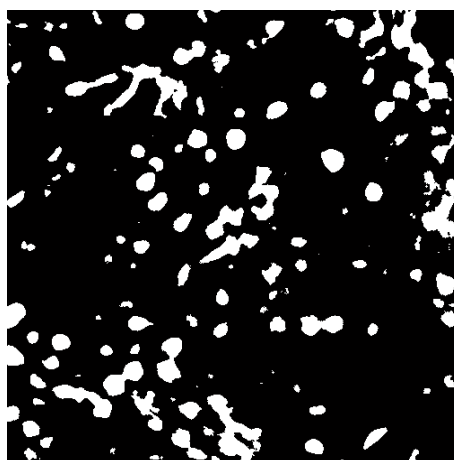
Obr. 34 Vstupní monochromatický obraz 14% PCL nanovlákněné vrstvy (a), vytvořená vyhledávací šablona (b).

V následujícím kroku došlo pomocí nadefinované funkce k výpočtu míry podobnosti vyhledávací šablony a vstupního obrazu v každém obrazovém pixelu. Výstupem této operace je matice korelací. Korelovaný obraz je uveden na obr. 35(a). Místa ve zkoumaném obraze, která se vyznačují vysokou korelací jsou nejsvětlejší a odpovídají vysoké shodě šablony a obrazu. Pomocí prahování korelovaného obrazu při volbě prahu

o velikosti 0.6 bylo dosaženo binárního obrazu, který zobrazuje objekty shodné se šablonou. Detekované objekty jsou znázorněny na obr. 35(b).



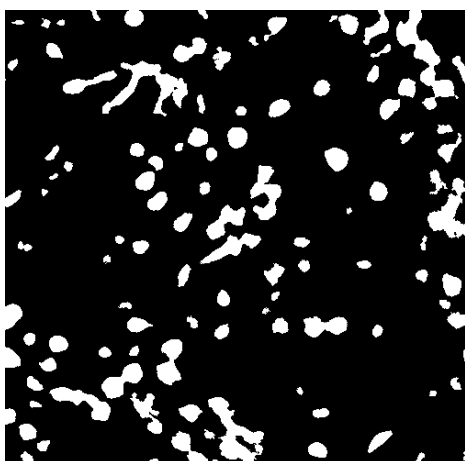
(a)



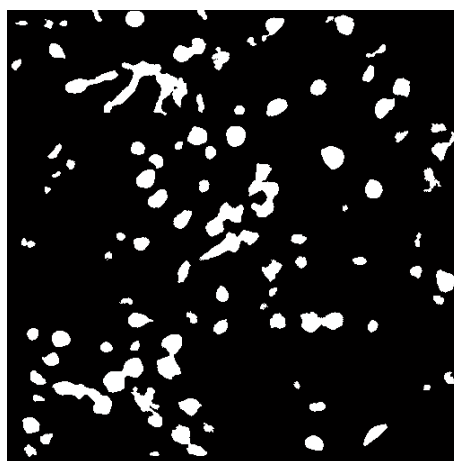
(b)

Obr. 35 Korelovaný obraz (a), binární obraz (b).

Na takto upraveném binárním obraze je viditelné velké množství malých objektů, které nerepresentují hledané defekty, z tohoto důvodu byly z binárního obrazu odstraněny všechny objekty menší než 30 pixelů, obraz po odstranění malých objektů je zobrazen na obr. 36(a). Dále byly v obraze potlačeny nekompletní objekty ležící na obrazových hranicích. Na obr. 36(b) je uveden obraz bez objektů dotýkajících se obrazových hranic.



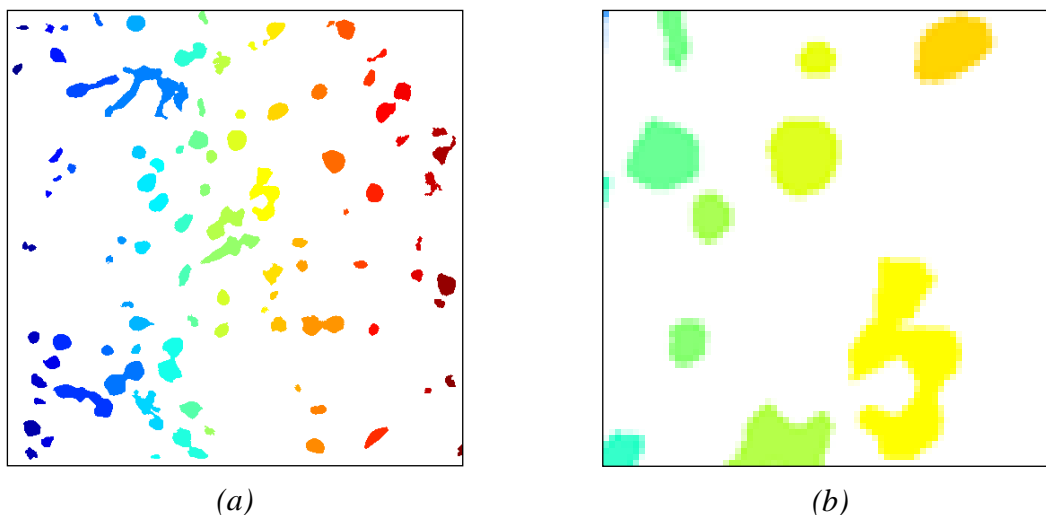
(a)



(b)

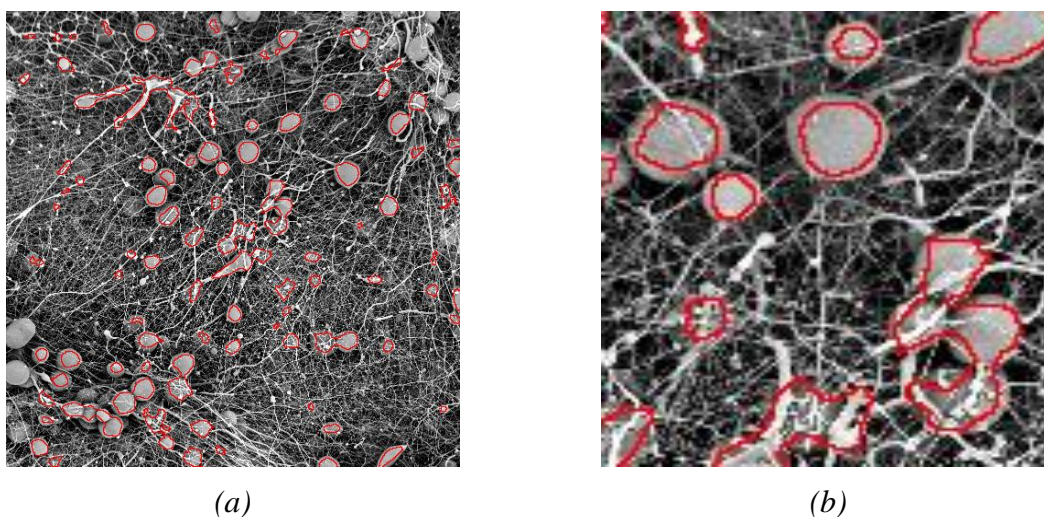
Obr. 36 Binární obraz po odstranění malých objektů (a), obraz s potlačenými nekompletními objekty ležícími na obrazové hranici (b).

Takto získaný binární obraz je vhodnou předlohou pro získání informací o objektech. Vstupem pro statistické vyhodnocení číselných informací získaných z obrazu byla stejně jako u stanovení parametrů pórů matice, ve které jsou jednotlivé objekty značeny indexy. Grafické znázornění vstupní matice detekující jednotlivé objekty je uvedeno na obr. 37(a),(b).



Obr. 37 Znázornění nalezených objektů v RGB barvách (a), (b).

Na obrázcích obr. 38(a),(b) byly znázorněny obvody nalezených defektů v původním šedotónovém obraze. Z obrázků je patrné, že na základě korelační metody byly v nanovlákněné vrstvě 14% PCL nalezeny téměř všechny vyskatující se kulovité defekty.



Obr. 38 Grafické znázornění obvodů nalezených objektů ve vstupním obraze (c) a (d).

Uvedený postup detekce defektů pomocí korelační metody v prostředí programu MATLAB lze snadno shrnout pomocí několika kroků tvořících níže uvedený algoritmus. V algoritmu jsou u každého kroku uvedeny základní použité zaimplementované funkce. Odpovídající skript je uveden v příloze 3.

- Vytvoř vzorovou šablonu pro detekci defektů (`strel.m`, `padarray.m`).
- Proveď korelaci mezi šablonou a obrazem (`dftcorr.m`).
- Proveď prahování korelovaného obrazu (`im2bw.m`).
- Uprav obraz použitím morfologických operací, odstraň malé objekty a potlač objekty ležící na hranici obrazu. (`bwareaopen.m`, `imclearborder.m`).
- Vytvoř vstupní matici, ve které jsou jednotlivým objektům přiřazeny indexy, jenž slouží pro získání informací o jednotlivých defektech (`bwlabel.m`).
- Proveď kalibraci, převed' pixely jednotlivých regionů na mikrometry.
- Vypočítej parametry jednotlivých regionů, vyhodnot' parametry defektů celého obrazu (`regionprops.m`).
- Vykresli obvody nalezených defektů ve vstupním obraze (`bwmorph.m`, `remove.m`).

4.4.2 Výsledky detekce defektů korelační metodou v MATLABU

Pomocí zaimplementované funkce bylo možné určit sadu vlastností pro jednotlivé nalezené defekty zapsané pomocí matice. K zjištění parametrů defektů byla použita vlastnost určující plochu `Area` a vlastnost udávající obvod `Perimeter`. Pro získání velikosti parametrů v mikrometrech bylo nutné provést kalibraci výsledků měření. Kalibrační vztahy použité pro vyhodnocení jednotlivých snímků jsou uvedeny v tab. 5.

Tab. 5 Kalibrační vztahy jednotlivých snímků v závislosti na koncentraci.

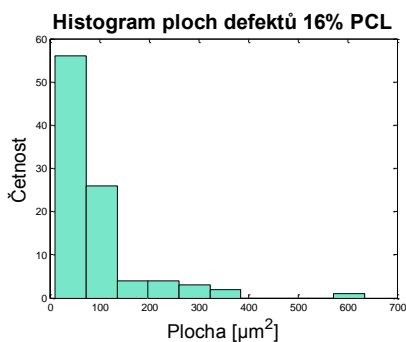
Koncentrace	Kalibrační vztah
14% PCL	1 pixel = 0.588 μm
16% PCL	1 pixel = 1.48 μm
18% PCL	1 pixel = 0.588 μm

Počet nalezených defektů n , průměrné plochy a obvody defektů PCL vlákných vrstev v závislosti na koncentraci, jsou uvedeny v tab. 6. Histogramy četnosti velikostí

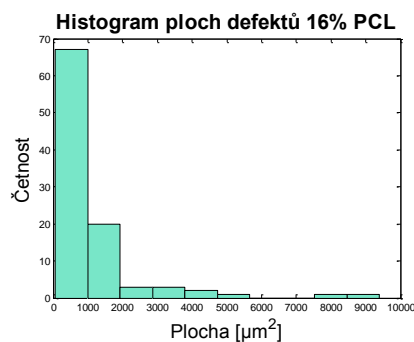
ploch defektů v závislosti na jednotlivých koncentracích PCL jsou uvedeny na obr. 39(a)-(c), na obr. 40(a)-(c) jsou uvedeny histogramy četností obvodů defektů v závislosti na koncentraci PCL. V případě nanovláknenné vrstvy o koncentraci 20% PCL nebyly touto metodou nalezeny žádné defekty.

Tab. 6 Průměrná plocha a obvod defektů v závislosti na koncentraci PCL.

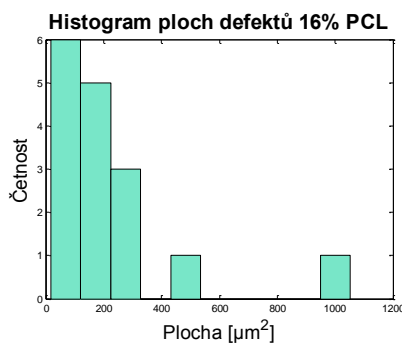
Koncentrace	n	Celková plocha [μm^2]	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Celkový obvod [μm]	Průměrný obvod [μm]	Std [μm]
14 PCL [%]	96	8558.20	89.15	95.91	3749.40	39.06	32.02
16 PCL [%]	98	94976.00	969.14	1525.20	13970.0	142.55	169.44
18 PCL [%]	16	3626.50	226.66	247.59	945.83	59.11	28.06



(a)

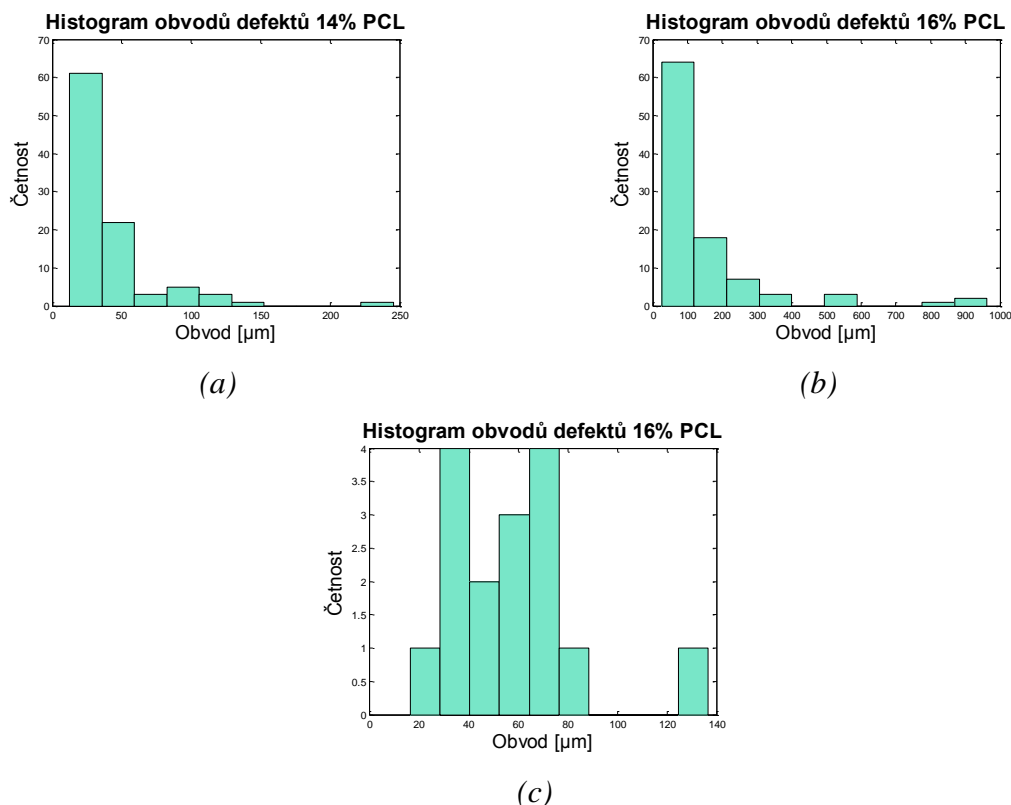


(b)



(c)

Obr. 39 Histogram četnosti velikostí ploch defektů na snímku (a) 14% PCL, (b) 16% PCL, (c) 18% PCL.



Obr. 40 Histogram četnosti obvodů defektů ze snímku (a) 14% PCL, (b) 16% PCL, (c) 18% PCL.

Ze zjištěných výsledků detekce defektů vyskytujících se v nanovlákněných vrstvách pomocí metody založené na korelaci vstupního obrazu a vytvořené šablony reprezentující tvar hledaných defektů lze říci, že je tato metoda vhodnější a přesnější než metoda detekce defektů založená na segmentaci defektů z obrazu uvedená v následující části práce. Na obr. 38(a) je jasně vidět, že byly nalezeny téměř všechny defekty vyskytující se v nanovlákněné vrstvě 14% PCL. Nevýhodou metody stanovení parametrů defektů pomocí korelační metody v programu MATLAB je nutnost přizpůsobení vyhledávacího vzoru obrazu velikosti defektů v obraze, při vyhledávání defektů nanovlákněné vrstvy 18% PCL musel být změněn poloměr kruhu reprezentující defekt na 25 pixelů, výsledky jsou však nepřesné, jako defekty byla detekována místa křížení vláken.

Na základě provedené obrazové analýzy realizované v prostředí programu MATLAB vedoucí ke stanovení základních charakteristik defektů vyskytujících se v nanovlákněných strukturách PCL vrstev, můžeme tvrdit, že koncentrace polymerního roztoku souvisí s jejich výskytem. Ve vrstvě 14% PCL bylo pomocí korelační metody

srovnání se vzorem zjištěno 96 defektů, ve vrstvě 16% PCL se vyskytovalo 98 defektů, ve vrstvě 18% PCL pouze 16 defektů a ve vrstvě 20% PCL nebyly nalezeny žádné defekty.

4.4.3 Detekce defektů korelační metodou v ImageJ

V prostředí programu ImageJ je stejně jako prostředí programu MATLAB velmi kreativní. Uživatel není omezen pouze základní nabídkou programu, ale je mu poskytnuta možnost rozšíření programu ImageJ pomocí online dostupných pluginů. Stanovení parametrů defektů nanovlákněných vrstev bylo realizováno použitím volně dostupného rozšíření *Create Template*, které je možné stáhnout na oficiálním webu ImageJ.

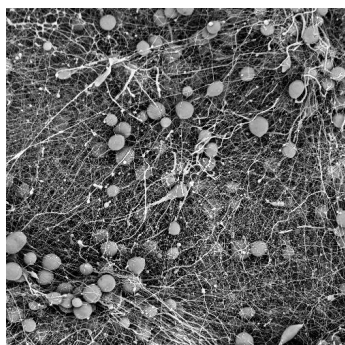
V prostředí programu ImageJ byl proces stanovení parametrů defektů vyskytujících se v nanovlákněných vrstvách demonstrován na vstupním monochromatickém snímku 14% PCL o rozměrech 500x500 pixelů. V následujícím textu jsou popsány jednotlivé kroky analýzy obrazu vedoucí k detekci defektů v prostředí programu ImageJ.

Image → Crop

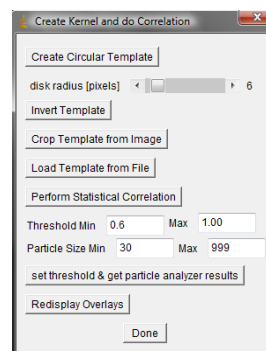
Prvním krokem, který následoval po načtení monochromatického snímku 14% PCL do prostředí programu ImageJ byl výřez obrazu pomocí nástroje *Rectangular selections* použitím příkazu *Crop* v nabídce *Image*, ořezaný snímek je uveden na obr. 41(a).

Plugins → Create Template

Vyhledání defektů v obraze bylo realizováno pomocí nainstalovaného pluginu *Create Template*. Metoda detekce objektů použitím tohoto pluginu vychází z hledání shody mezi vytvořenou předlohou a vstupním obrazem. Pro každý pixel vstupního obrazu je vypočten normalizovaný korelační koeficient mezi šablonou a obrazovými body ve zkoumaném obraze. Spuštěním pluginu *Create Template* dojde k zobrazení dialogového okna *Create Kernel and do Correlation*, dialogové okno je zobrazeno na obr. 41(b).



(a)



(b)

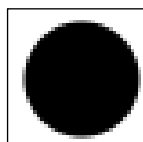
Obr. 41 Vstupní monochromatický snímek 14% PCL nanovlákněné vrstvy (a), dialogové okno *Create Kernel and do Correlation* (b).

Nabídka dialogového okna *Create Kernel and do Correlation* se skládá z posloupných kroků vedoucích k detekci objektů na základě vytvořené předlohy. Mezi nabídku tohoto dialogového okna patří

- *Create Disk Template button*,
- *Invert template button*,
- *Crop Template from Image button*,
- *Load Template from File button*,
- *Perform Statistical Correlation*,
- *Set threshold and get particle analyzer results*.

Plugins → Create Template → Create Disk Template button

Použitím nástroje *Create Template button* je možné vytvořit kruhovou šablonu představující hledané objekty o libovolném poloměru. Vytvořená šablona je uvedeny na obr. 42(a). Použitím nástroje *Invert template button* je vytvořená šablona transformována na „negativ“. Negativní obraz šablony je uveden na obr. 42(b).



(a)



(b)

Obr. 42 Vytvořená vyhledávací šablona (a), negativní obraz šablony (b).

Tento způsob tvorby šablony nebyl v práci použit vzhledem k absenci možnosti nastavení intenzity šedi vyhledávací šablony dle defektů vyskytujících

se v nanovláknenných vrstvách. Tvorbu šablony pomocí nástroje *Create Template button* je možné doporučit pro detekci kruhových objektů z binárních obrazů.

Plugins → Create Template → Crop Template from Image button

Způsob tvorby šablony, který byl v práci použit je vytvoření šablony prostřednictvím nabídky *Crop Template from Image button*, kdy je šablona vyřezána přímo ze vstupního monochromatického obrazu. Prvním krokem je označení místa – defektu ve vstupním monochromatickém obraze, který má být považován za srovnávací šablonu pomocí nástroje *Rectangular* nacházejícího se v hlavní nabídce. Označený defekt, který byl považován za srovnávací šablonu v případě detekce defektů nanovláknenné vrstvy 14% PCL je uveden na obr. 43(a). Kliknutím na nástroj *Crop Template from Image button* dojde k vyřezání šablony ze vstupního obrazu, vyřezaná šablona je uvedena na obr. 43(b). Defekt, na základě kterého byla vytvořena šablona pro detekci defektů ve vrstvě 16% PCL je vyznačen žlutě na obr. 43(c), defekt ze kterého vychází šablona pro detekci objektů ve vrstvě 18% PCL je vyznačen na obr. 43(d).



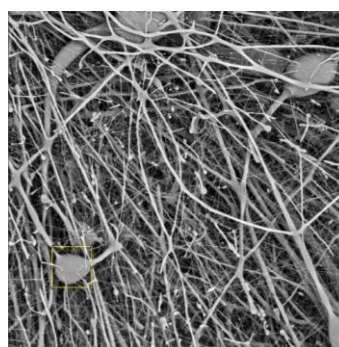
(a)



(b)



(c)



(d)

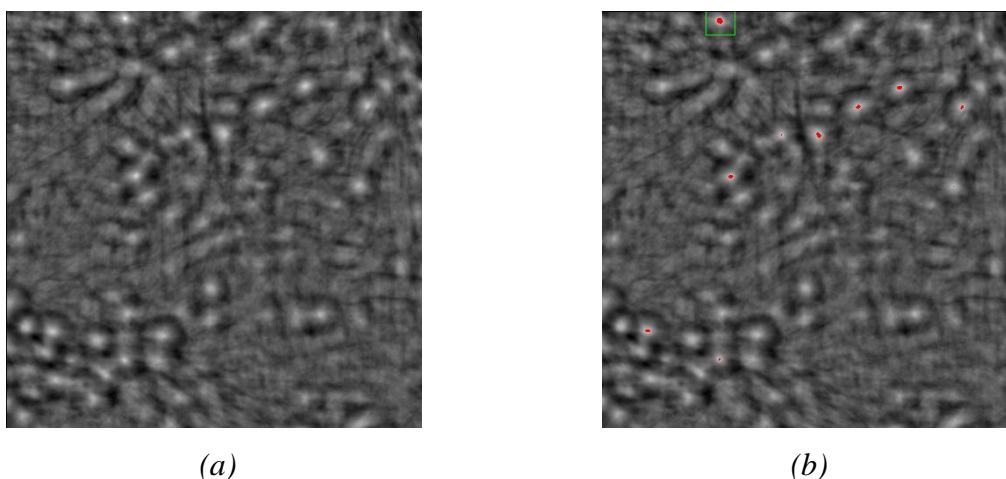
Obr. 43 Označený defekt ve vstupním monochromatickém snímku 14% PCL, na základě kterého došlo k vytvoření šablony (a) a odpovídající vytvořená šablona (b), vyznačený defekt ve vrstvě 16% PCL a 18% PCL na základě kterého byla vytvořena šablona (c), (d).

Plugins → Create Template → Perform Statistical Correlation

Příkazem *Perform Statistical Correlation* byla spočtena korelace obrazu s vytvořenou šablonou, korelovaný obraz je uveden na obr. 44(a). Intenzita šedi každého pixelu představuje korelaci obrazu a šablony, místa s nejvyšší korelací jsou nejsvětlejší.

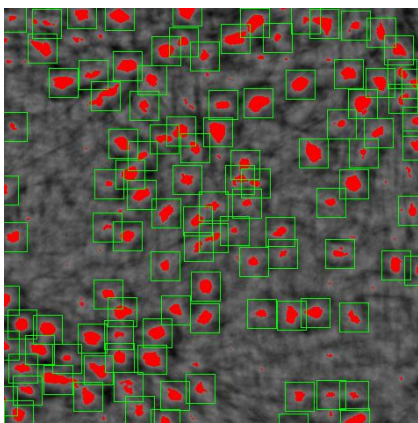
Plugins → Create Template → Set threshold and get particle analyzer results

V posledním kroku došlo k transformaci korelovaného obrazu na binární a k detekci objektů v korelovaném obraze. V dialogovém okně *Create Kernel and do Correlation* je možné nastavit prahovou hodnotu v intervalu od 0 do 1, používanou k převodu korelovaného obrazu na binární. Pokud byla prahová hodnota nastavena stejně jako v prostředí programu MATLAB na 0.6, v korelovaném obraze byl po potlačení vyhodnocení objektů menších než 30 pixelů nalezen pouze jeden defekt, který je na obr. 44(b) ohraničen zeleným rámečkem.

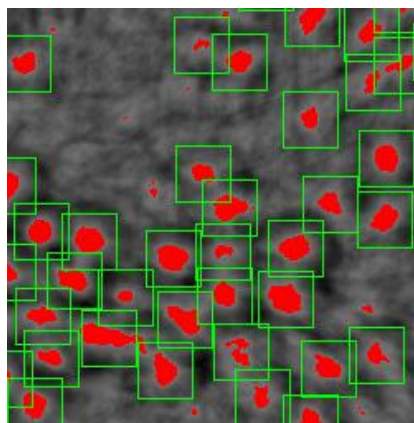


Obr. 44 Korelovaný obraz (a), ohraničený detekovaných defekt (b).

Z tohoto důvodu bylo nutné na základě subjektivního hodnocení upravit prahovou hodnotu, prahová hodnota byla nastavena na 0.2. Nalezené defekty po upravení prahové hodnoty jsou znázorněny na obr. 45(a),(b).



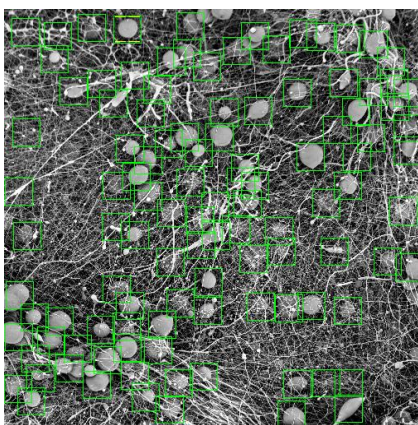
(a)



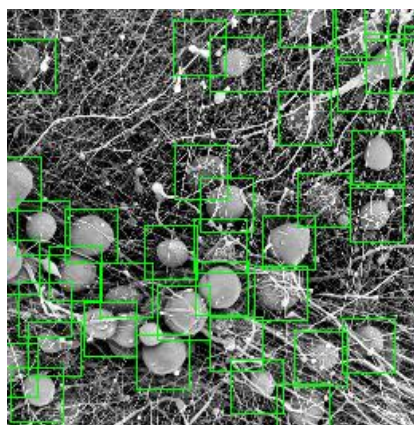
(b)

Obr. 45 Nalezené objekty v korelovaném obraze připravené k vyhodnocení parametrů defektů (a) a (b).

Vyznačení nalezených defektů ve vstupním monochromatickém snímku 14% PCL nanovlákněné vrstvy pomocí zelených čtverců je zobrazeno na obr. 46(a),(b). Z těchto obrázků je patrné, že byly nalezeny téměř všechny defekty vyskytující se v nanovlákněné vrstvě.



(a)



(b)

Obr. 46 Vyznačené nalazené defekty ve vstupním monochromatickém snímku 14% PCL nanovlákněné vrstvy (a), (b).

Analyze → Set Scale

Kalibrace musela být v tomto případě realizována až po aplikaci pluginu *Create Template*, pokud byla kalibrace provedena před aplikací pluginu, přídatný modul vykazoval chybu. Podrobný popis kalibrace je uveden v předešlé části práce zabývající se určením parametrů mezivlákněných pórů.

Analyze → Analyze Particles

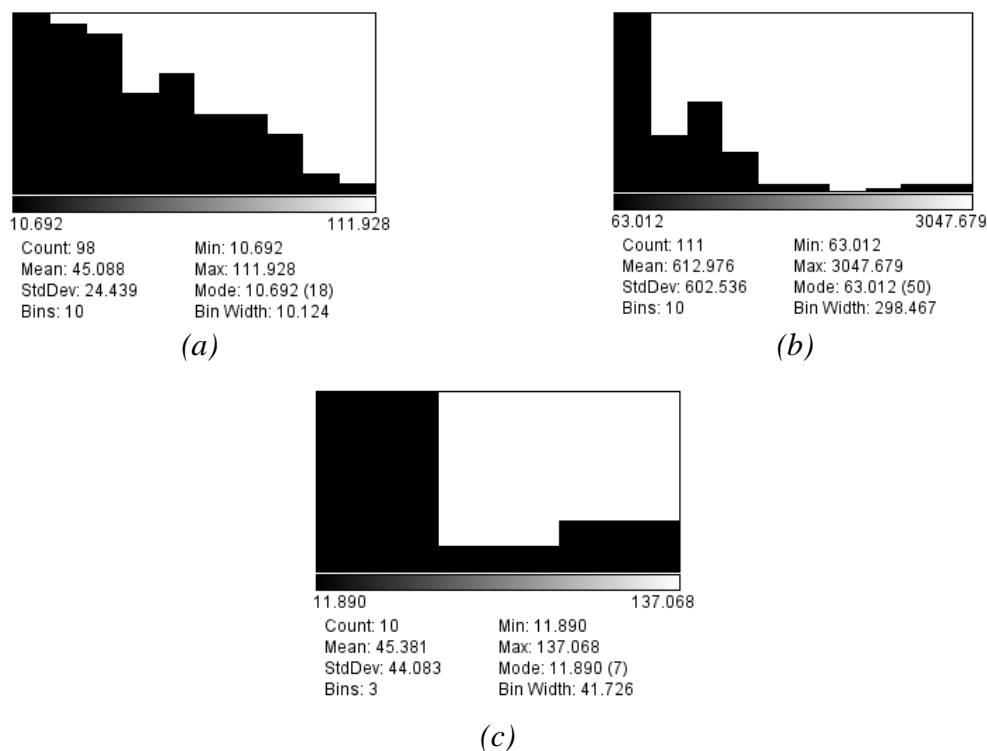
Analýza výsledků, která je pluginem nabízena je nedostačující, pomocí pluginu je možné vyhodnotit pouze vlastnost *Area*. Z tohoto důvodu budeme parametry nalezených defektů určovat pomocí nabídky *Analyse → Analyze Particles*.

Vstupním obrazem pro stanovení základních parametrů je korelovaný obraz s červeně vyznačenými plochami defektů zobrazený na obr. 45(a). Mezi vlastnosti které byly vyhodnoceny, patří *Area* a *Perimeter*. Stejně jako v prostředí programu MATLAB bylo potlačeno vyhodnocení nekompletních objektů ležících na obrazové hranici a vyhodnocení parametrů objektů skládajících se z méně než 30 pixelů.

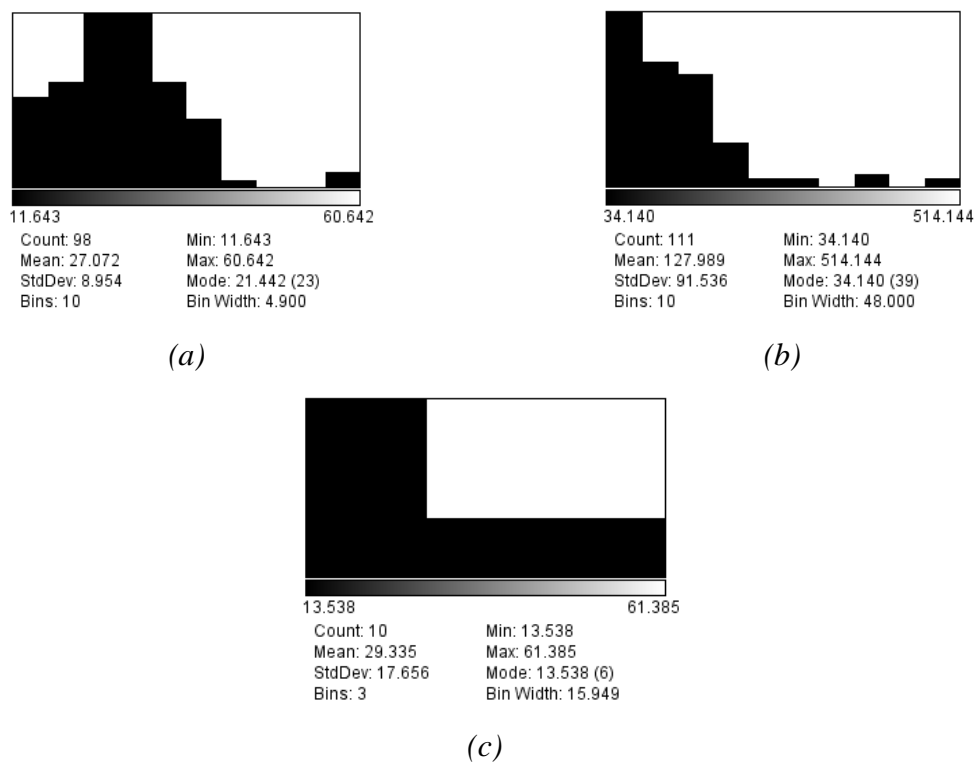
Počet nalezených defektů n a výsledky stanovení parametrů defektů nanovlákných vrstev jsou uvedeny v tabulce tab. 7. Na obr. 47(a)-(c), jsou zobrazeny histogramy ploch nalezených defektů v závislosti na koncentraci zvlákněného polymerního roztoku. Na obr. 48(a)-(c) jsou uvedeny histogramy obvodů nalezených defektů v závislosti na koncentraci zvlákněvaného roztoku.

Tab. 7 Parametry defektů nanovlákných vrstev.

Koncentrace	n	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Průměrný obvod [μm]	Std [μm]
14 PCL [%]	98	45.09	24.44	27.07	8.95
16 PCL [%]	111	612.98	602.54	127.99	91.54
18 PCL [%]	10	45.38	44.08	29.34	17.66



Obr. 47 Histogram ploch defektů nanovlákněné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).



Obr. 48 Histogram obvodů defektů nanovlákněné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).

Stanovení parametrů defektů v prostředí programu ImageJ pomocí korelační metody založené na srovnání se vzorem na základě pluginu *Create Template* je poměrně zdoluhavým procesem, který vykazuje odlišné výsledky stanovených charakteristik defektů, než tomu bylo při použití metody vyhledávání defektů pomocí korelace v programu MATLAB. (Shrnutí jednotlivých kroků je uvedeno v příloze 7). Z důvodu výrazně se lišících výsledků než jakých bylo dosaženo v prostředí programu MATLAB musely být při aplikaci metody vyhledávání defektů v programu ImageJ učiněny tyto rozdíly.

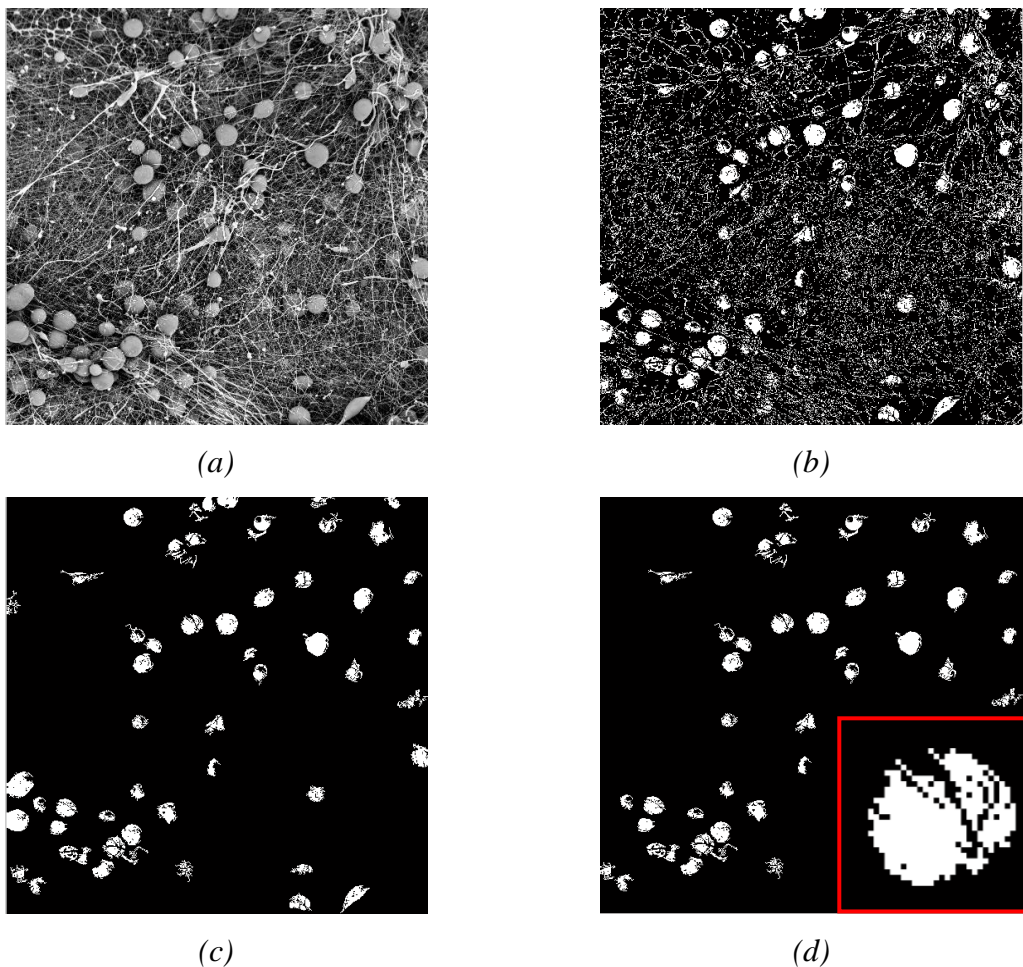
- Při vyhodnocení snímku 14% PCL a 18% PCL byla provedena změna prahu při převodu korelovaného obrazu na binární, hodnota 0.6 byla nahrazena hodnotou 0.2. Při vyhodnocení snímku 16% PCL byla prahová hodnota rovna 0.1.
- Srovnávací šablony byly vytvořeny výřezem defektu ze vstupního obrazu.

Ze zjištěných výsledků je i tak patrné, že se výskyt defektů s rostoucí koncentrací roztoku PCL snižuje. Stejně jako v prostředí programu MATLAB nebyly ve vrstvě 20% PCL detekovány žádné defekty.

4.4.4 Detekce defektů založená na segmentaci v programu MATLAB

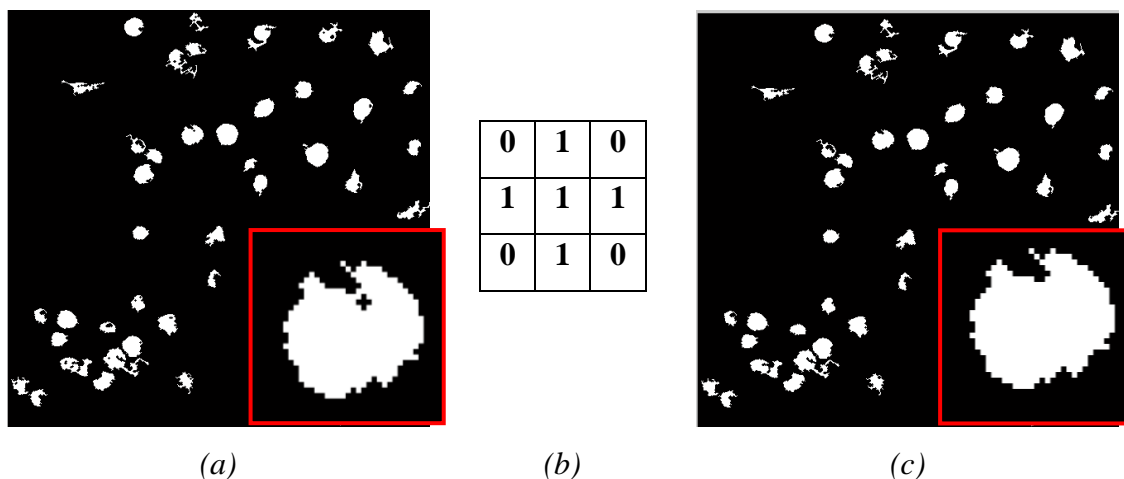
Detekci objektů je v prostředí programu MATLAB možné realizovat i jednodušším způsobem, než korelační metodou. Pomocí vhodně zvoleného prahu aplikovaného na vstupní monochromatický je možné získat binární obraz, ve kterém budou ponechány především objekty zájmu, v našem případě defekty kulovitého tvaru.

Postup získání informací o objektech ze vstupního obrazu je demonstrován na snímku 14% PCL v rozlišení 512x512 pixelů. Vstupní obraz obr. 49(a) byl pomocí víceúrovňového prahování převeden na binární. Práh byl zvolen jako interval, rozsah intervalu byl určen na základě informací o hodnotě úrovně šedi defektů tj. od 155 do 185. Ukázka výsledného binárního obrazu je na obr. 49(b). Ve vzniklém binárním obraze nebyly po prahování viditelné pouze defekty, ale byly zobrazeny i zbytky vláken, které tvořily nový nežádáný šum. Vlákná v binárním obraze se jeví jako objekty o malém počtu pixelů. Z obrazu byly odstraněny všechny objekty menší než 100 pixelů obr. 49(c). Dále došlo k potlačení objektů, které leží na okraji obrazu, ukázka obrazu je uvedena na obr. 49(d).



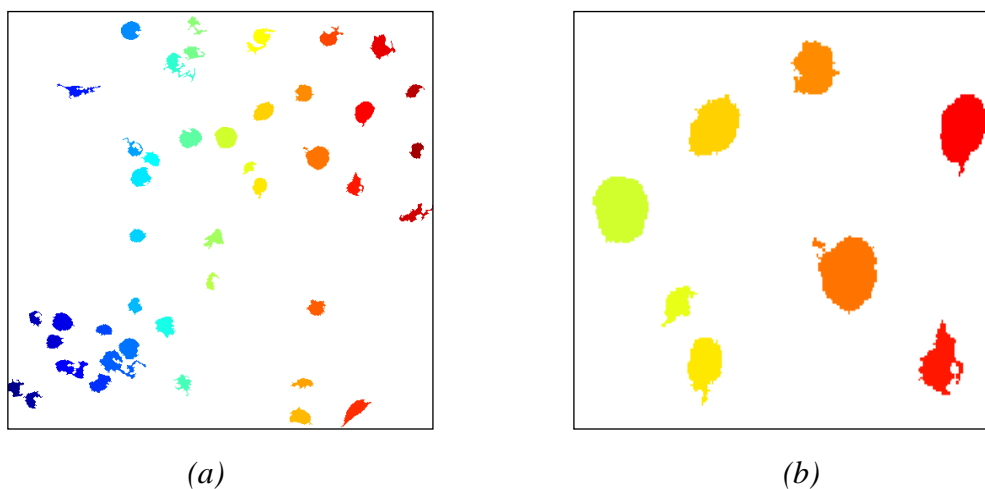
Obr. 49 Vstupní monochromatický obraz 14% PCL (a), binární obraz (b), obraz po odstranění malých objektů (c), obraz s potlačenými objekty ležící na hranici obrazu (d).

Takto připravený obraz není dostačující k získání vypovídajících informací o objektech, objekty nejsou kompaktní, v jejich struktuře se nacházejí černé pixely - díry. Z tohoto důvodu je nutné zahrnout do postupu i některé morfologické operace. První operací bylo vyplnění děr (černých míst) objektů obr. 49(a). V dalším kroku došlo k morfologickému uzavření objektů, za použití vytvořeného strukturního prvku zobrazeného na obr. 49(b), kterým je matice o velikosti 3x3. Tímto krokem došlo k vyplnění zbývajících mezer objektů a k vyhlazení jejich vnějších hran, takto upravený obraz je uveden na obr. 49(c).



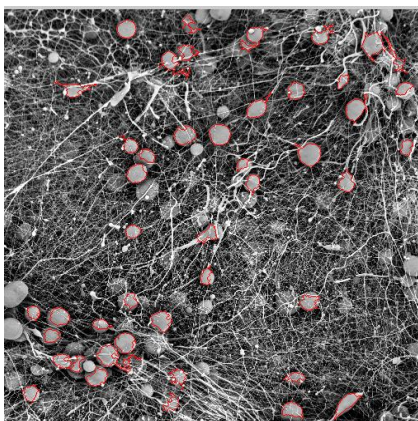
Obr. 49 Obraz před vyplněním děr (a), strukturní prvek (b), obraz po vyplnění děr strukturním prvkem (c).

Grafické znázornění nalezených objektů je uvedeno na obr. 50(a),(b), každému objektu je přiřazena jiná barva. Z tohoto obrazu je možné získat číselné charakteristiky o nalezených objektech představujících defekty.

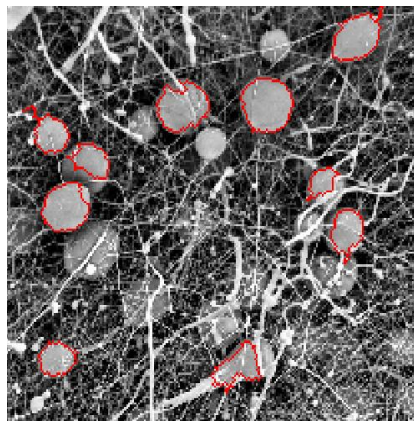


Obr. 50 Zobrazení nalezených objektů v RGB (a), (b).

Pro lepší orientaci a vyhodnocení přesnosti hledání defektů bylo použito grafického znázornění obvodů defektů v původním šedotónovém obraze, vyznačené nalezené objekty v původním obraze jsou zobrazeny na obr. 51(a),(b).



(a)



(b)

Obr. 51 Grafické znázornění obvodů defektů v původním šedotónovém obraze (a), (b).

Uvedený způsob detekce defektů v prostředí programu MATLAB založený na segmentaci obrazu lze zjednodušeně zapsat dle níže uvedeného algoritmu skládajícího se z několika kroků. K jednotlivým krokům algoritmu jsou přiřazeny zaimplementované funkce (přesně definované v příloze 1), které je možné aplikovat v prostředí programu MATLAB. Vytvořený skript je přiložen k nahlédnutí v příloze 4.

- Převed' vstupní obraz na binární, použij operaci prahování, hodnotu prahu nalezni experimentálně jako interval. Velikost intervalu odvod' od hodnot šedi defektů v obraze.
- Uprav obraz použitím morfologických operací, odstraň malé objekty, vyplň díry v objektech, uzavři a vyhlad' hranice objektů, potlač objekty ležící na hranici obrazu (`bwareaopen.m`, `imclearborder.m`, `imfill.m`, `imclose.m`).
- Vytvoř vstupní matici pro získání informací o jednotlivých regionech (`bwlabel.m`).
- Proveď kalibraci, převed' pixely jednotlivých regionů na mikrometry.
- Vypočítej parametry jednotlivých regionů, vyhodnot' parametry defektů celého obrazu (`regionprops.m`).
- Vykresli obvody nalezených defektů do vstupního obrazu (`bwmorph.m`).

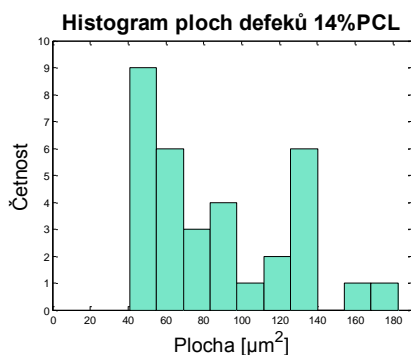
4.4.5 Vyhodnocení výsledků detekce defektů segmentací v MATLABU

Vlastnosti pro jednotlivé objekty byly opět určeny použitím zaimplementované funkce `regionprops.m` aplikované na vstupní matici popisující velikost jednotlivých objektů. K zjištění parametrů defektů byla opět použita vlastnost určující plochu `Area`

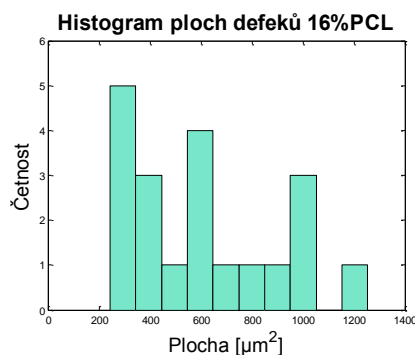
a vlastnost udávající obvod *Perimeter*. Kalibrace výsledků měření byla provedena dle dříve uvedené tab. 5. Počet nalezených defektů n , průměrné plochy a obvody defektů v závislosti na koncentraci zvlákněného PCL, jsou uvedeny v tab. 8. Histogramy četností velikostí ploch defektů v závislosti na jednotlivých koncentracích PCL jsou uvedeny na obr. 52(a)-(c).

Tab. 8 průměrné plochy a obvody defektů v závislosti na koncentraci PCL.

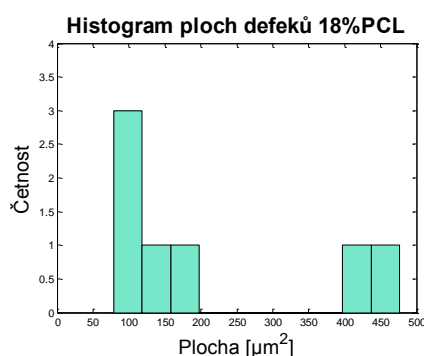
Koncentrace	n	Celková plocha [μm^2]	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Celkový obvod [μm]	Průměrný obvod [μm]	Std [μm]
14 PCL [%]	33	2868.20	86.91	38.37	1600.7	48.51	9.89
16 PCL [%]	20	1201.20	600.61	306.39	2687.6	134.38	43.67
18 PCL [%]	7	1504.50	214.93	168.60	751.42	107.35	39.27



(a)



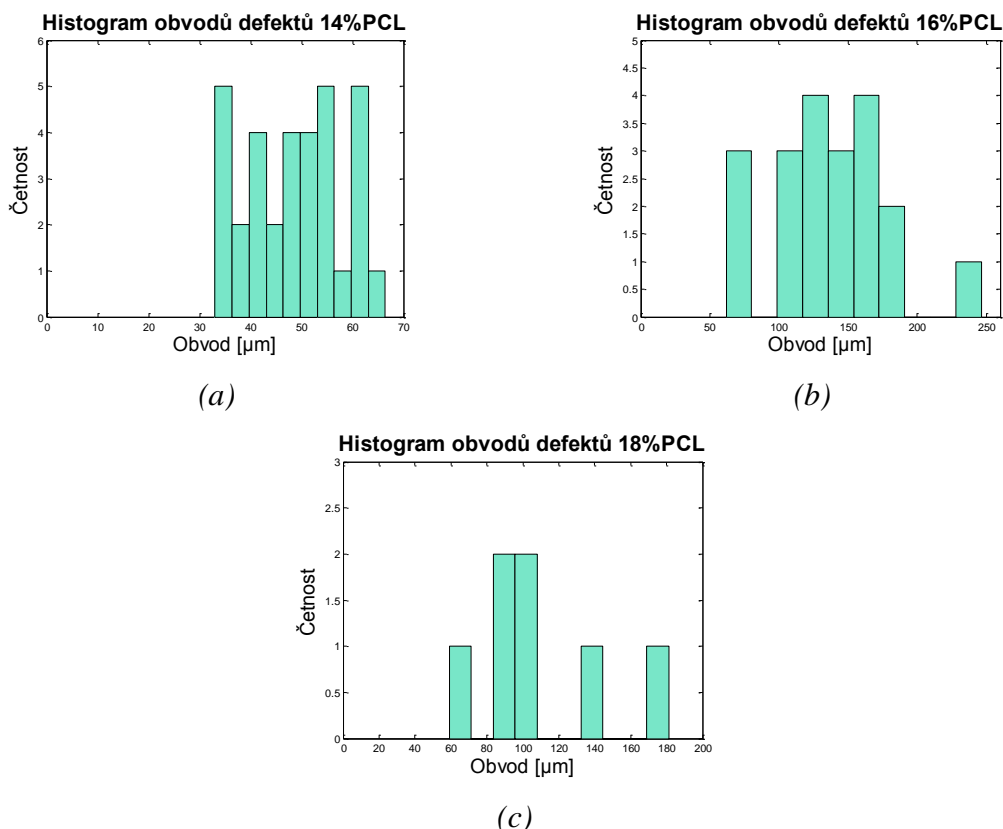
(b)



(c)

Obr. 52 Histogram ploch nalezených defektů ve vrstvě 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).

Na obr. 53(a)-(c), jsou uvedeny histogramy četností obvodů defektů v závislosti na koncentraci PCL.



Obr. 53 Histogram obvodů nalezených defektů ve vrstvě 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).

Detekce defektů nanovlákných vrstev založená na segmentaci obrazu je snadným a efektivním způsobem stanovení jejich parametrů v programu MATLAB. Na rozdíl od detekce založené na korelaci obrazu se vzorem bylo touto metodou nalezeno podstatně méně defektů. Tato navržená metoda je méně přesná, nebyly detekovány malé objekty. Nevýhodou je nutnost změny parametrů segmentace v obraze vzhledem k úrovni šedi hledaných defektů.

4.4.6 Detekce defektů založená na segmentaci v programu ImageJ

Stejně jako je tomu v programu MATLAB, i v programu ImageJ je možné identifikovat defekty nalézající se ve vytvořených nanovlákných vrstvách několika způsoby. První způsob, který byl v této práci demonstrován, vychází z hledání shody obrazu s definovanou šablonou pomocí korelace. Tento způsob je však složitý, časově náročnější a k jeho realizaci je zapotřebí instalace rozšíření - pluginu.

Snadnou alternativou k dříve uvedenému způsobu detekce defektů je metoda založená na segmentaci obrazu. Podstatou této metody je co nejlépe vyčlenit z obrazu objekty zájmu – defekty a stanovit jejich parametry. V následujícím textu je uveden postup

stanovení základních strukturních parametrů defektů nanovláknenných vrstev na základě segmentace obrazu v prostředí programu ImageJ. Některé nástroje, které byly v prostředí ImageJ použity byly v práci podrobně popsány dříve, v následujícím textu bude tedy uveden jen jejich stručný popis.

Analyze → Set Scale

V prvním kroku byl do pracovního prostředí programu ImageJ načten monochromatický snímek 14% PCL. Pomocí nástroje *Set Scale* nabídky *Analyze* byla provedena kalibrace. Vyhodnocení výsledků bude tedy vygenerováno v reálných jednotkách, ne v pixelech.

Image → Crop

Dalším krokem, který následoval, byl výřez obrazu. Vstupní snímek byl pomocí nástroje *Rectangular selections* označen a příkazem *Crop* v nabídce *Image* manuálně oříznut na velikost 512x512 pixelů, ořezaný monochromatický snímek je uveden na obr. 54(a).

Image → Adjust → Threshold

Transformace vstupního monochromatického obrazu na binární byla realizována prostřednictvím víceúrovňového prahování, prahový interval byl zvolen stejně jako v prostředí programu MATLAB v rozsahu od 155 do 185. K prahování došlo použitím příkazu *Threshold*, prahovací interval byl nastaven ručně v dialogovém okně *Threshold* na základě histogramu úrovně šedi. Jako objekty jsou chápány nulové (černé) pixely. Vzniklý binární obraz je uveden na obr. 54(b).

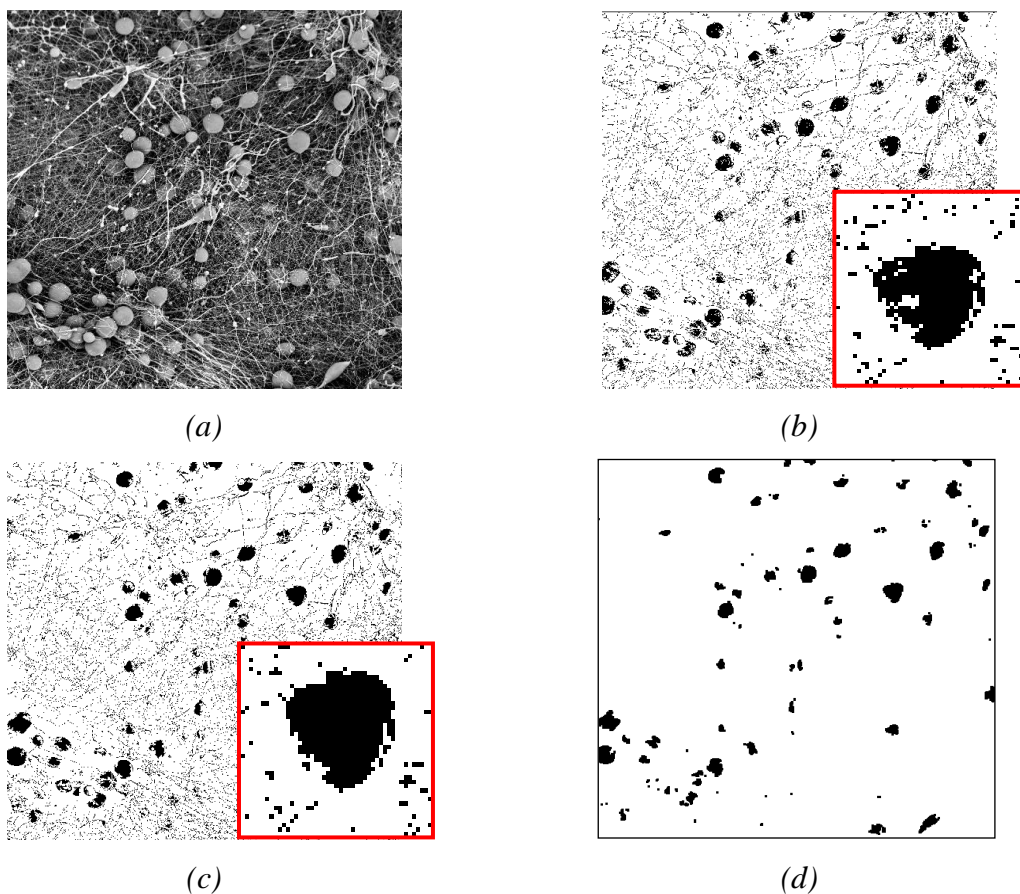
Process → Binary → Fill Holes

Pomocí příkazu *Fill Holes* nacházejícího se v nabídce *Binary* došlo k morfologické operaci vedoucí ke změně objektů, takzvanému zaplnění děr obr. 54(c).

Process → Binary → Open

Pomocí nástroje *Open* v nabídce *Process → Binary* došlo k odstranění malých pixelů z obrazu a vyhlazení objektů. Princip odstranění objektů složen ze dvou kroků, prvním krokem je eroze, druhým dilatace. Eroze odstraňuje pixely z hran objektů, dilatace naopak

k hranám objektů pixely přidává. Obraz se po odstranění malých objektů pomocí otevření je znázorněn na obr. 54(d).



Obr. 54 Vstupní obraz nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), binární obraz (b), obraz po vyplnění děr (c), otevřený obraz (d).

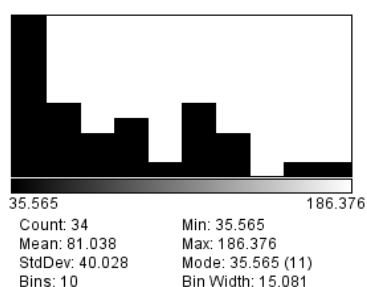
Analyze → Analyze Particles

Pomocí příkazu *Analyze Particles* v nabídce *Analyze* byly vyhodnoceny parametry objektů v binárním obraze. V dialogovém okně tohoto příkazu bylo nastaveno potlačení nekompletních objektů, dotýkajících se obrazové hranice. Dále bylo, jako v prostředí programu MATLAB potlačeno vyhodnocení objektů menších než 100 pixelů. Mezi vlastnosti, které byly vybrány v nabídce *Analyze* → *Set Measurements* a určeny k vyhodnocení patří *Area* a *Perimeter*. V tabulce tab. 9 jsou uvedeny výsledné hodnoty naměřených parametrů defektů nanovláknenných vrstev lišících se koncentrací.

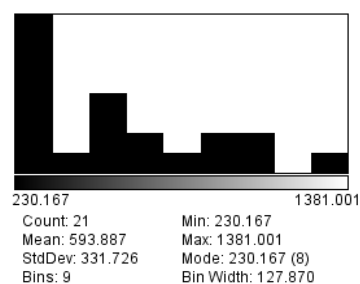
Tab. 9 Výsledky stanovení parametrů defektů.

Koncentrace	n	Celková plocha [μm^2]	Průměrná plocha [μm^2]	Std [μm^2]	Obvod [μm]	STD [μm]
14 PCL [%]	34	2755.28	81.04	40.03	36.95	9.26
16 PCL [%]	21	12471.63	593.89	331.73	105.5	41.85
18 PCL [%]	9	1669.56	185.51	180.30	69.74	37.76

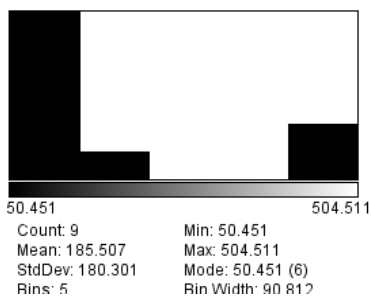
Na následujícím obrázku 55(a)-(c), jsou zobrazeny histogramy ploch nalezených defektů v závislosti na koncentraci zvlákněného roztoku PCL, na obr. 56(a)-(b) jsou zobrazeny histogramy četností obvodů defektů nalezených na monochromatických snímcích PCL nanovláknenných vrstev o různých koncentracích.



(a)

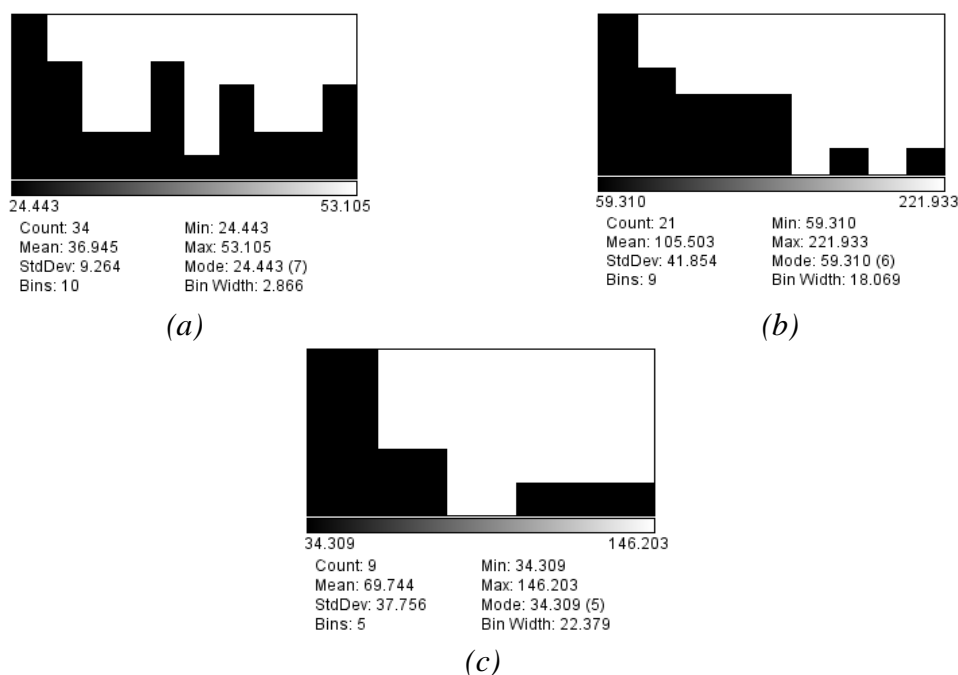


(b)



(c)

Obr. 55 Histogram četnosti ploch defektů nalezených na snímku 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).



Obr. 56 Histogram četnosti obvodů defektů nalezených na snímku 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c).

Analýza obrazu vedoucí ke klasifikaci defektů v programu ImageJ založená na segmentaci obrazu je snadná a vykazuje podobné výsledky, jako tomu bylo u metody založené na stejném principu realizované v prostředí programu MATLAB. U této metody musela být učiněna jedna odchylka od postupu uvedeného v prostředí programu MATLAB, při vyhodnocení snímku nanovlákněné vrstvy o koncentraci 18% PCL byly potlačeny všechny objekty skládající se z méně než 150 pixelů, důvodem byla nedostatečná segmentace obrazu.

4.5 Zhodnocení stanovení parametrů defektů

Stanovení parametrů defektů vyskytujících se v nanovlákněných vrstvách bylo realizováno prostřednictvím dvou metod aplikovaných v různých programech, v programu MATLAB a programu ImageJ.

První testovaná metoda byla založena na hledání shody obrazu a vytvořené šablony reprezentující vzorový tvar defektu vycházející ze vzájemné korelace, výsledné charakteristiky zjištěné v prostředí programu MATLAB byly podobné s charakteristikami určenými v prostředí programu ImageJ. Pomocí této metody byly v prostředí obou programů detekovány téměř všechny defekty vyskytující se ve zkoumaných nanovlákněných vrstvách. Druhá metoda vycházela ze segmentace obrazu, charakteristiky

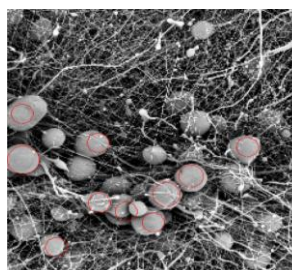
zjištěné touto metodou byly v obou případech použitého vyhodnocovacího programu stejné. Metoda založená na segmentaci obrazu není příliš přesná, pomocí této metodiky bylo detekováno malé množství defektů obsažených v nanovlákněných vrstvách.

Na základě stanovených výsledků obou metod aplikovaných v programu MATLAB i programu ImageJ lze konstatovat, že koncentrace PCL ovlivňuje výskyt defektů ve zkoumaných nanovlákněných vrstvách. Nejvíce defektů bylo ve všech případech detekováno ve vrstvě o koncentraci 14% PCL, ve vrstvě 20% PCL se již žádné defekty nevyskytovaly.

Detekce defektů kulovitěho tvaru byla zkoušena i na základě Houghovy transformace, jejímž cílem je vyhledávání definovaného množství objektů dle popsaného tvaru ve zkoumaném obraze. Tato metoda je nejčastěji používána ke hledání ne příliš složitých tvarů, tj. objektů, jejichž tvar lze popsat jednoduchými křivkami, těmi jsou přímky, trojúhelníky nebo kružnice. Houghova transformace je nejlépe aplikovatelná na binární obraz. Vstupem pro detekci defektů pomocí Houghovy transformace byly monochromatické snímky PCL nanovlákněných vrstev lišící se koncentrací. Binární obraz byl získán stejně jako u ostatních metod detekce defektů pomocí víceúrovňového prahování, dále následovalo několik morfologických operací majících za cíl oddělení objektů zájmu od pozadí. V dalších krocích byla provedena detekce hran objektů a použitím vytvořené funkce pro Houghovu transformaci byly nalezeny vrcholy jednotlivých objektů, které byly středem pro vykreslení kružnice definující velikost nalezeného defektu. Detekované hrany defektů jsou znázorněny na obr. 57(a), vykreslené kružnice reprezentující tvar defektů jsou znázorněny na obr. 57(b). Aplikace této metody se neosvědčila, metoda je špatně aplikovatelná, velkým nedostatkem je nutnost definování množství objektů, které mají být nalezeny a nutnost definice rozsahu poloměrů defektů.



(a)



(b)

Obr. 57 Nalezené hrany defektů vyskytujících se v nanovlákněné vrstvě (a), vykreslené kružnice reprezentující nalezené defekty (b).

4.6 Extrakce orientace nanovláken

Zjišťování orientace vláken je dle [26] experimentální grafickou metodou, jejímž výsledkem je sestavená směrová růžice. Z tohoto důvodu je vhodné manuální grafickou metodu nahradit technikou založenou na obrazové analýze.

Podstata určení orientace vláken vláknenné struktury vychází z vlastností Fourierova spektra. Směr vláken je určen na základě rozložení vysokých hodnot frekvenčních komponent odpovídajících převládajícím směrům prostorové oblasti. Pokud se jedná o náhodně orientovanou strukturu, obraz ve frekvenční oblasti má kruhovitý tvar, tzn., vlákna jsou orientována ve všech směrech. Frekvenční oblast snímku vláknenné vrstvy ve které jsou všechna vlákna orientována v jednom směru, se vyznačuje elipsovitým tvarem. Čím více jsou vlákna orientována, tím je pomyslná elipsa protáhlejší. Fourierova transformace dvojrozměrného monochromatického obrazu $f(x,y)$ je v práci [7] vyjádřena vztahem

$$F(u, v) = \sum_{x=0}^{m-1} \sum_{y=0}^{n-1} f(x, y) e^{-j 2 \pi \left(\frac{ux}{m} + \frac{vy}{n} \right)}, \quad (8)$$

kde u, v jsou frekvenční proměnné, u nabývá hodnot $u=0, 1, 2, \dots, m-1$ a v nabývá hodnot $v=0, 1, 2, \dots, n-1$, a x, y jsou prostorové souřadnice, x nabývá hodnot $x=0, 1, 2, \dots, m-1$, y nabývá hodnot $y=0, 1, 2, \dots, n-1$ a $f(x, y)$ je úroveň šedi obrazových bodů o rozměrech $m \times n$. Počátek frekvenční oblasti je vyjádřen jako $F(0,0)$. Pokud je $f(x,y)$ reálná funkce, tak je její transformace komplexní. Pro analýzu vizuální transformace je vypočteno její spektrum $|F(u,v)|$, výkonové spektrum je pak vyjádřeno jako $P(u,v) = |F(u,v)|^2$. Z důvodu vizualizace je dynamický rozsah koeficientů zredukován pomocí logaritmické transformace $Q(u,v) = \log(1 + P(u,v))$. Metoda pro odhad směrového rozložení je například uvedena v práci [7], kde jsou koeficienty Fourierova spektra vyneseny do polárního diagramu.

Další metoda používaná pro odhad směrového uspořádání je založena na transformaci výkonového spektra na binární obraz prostřednictvím prahování. Prahováním dojde k selekci významných frekvenčních komponent, jejichž rozložení odpovídá převažujícím směrům. Pro jejich jednoduchý popis se využívá obrazových momentů. Obecný moment řádu $(p+q)$ obrazové funkce $f(x,y)$ je dán vztahem

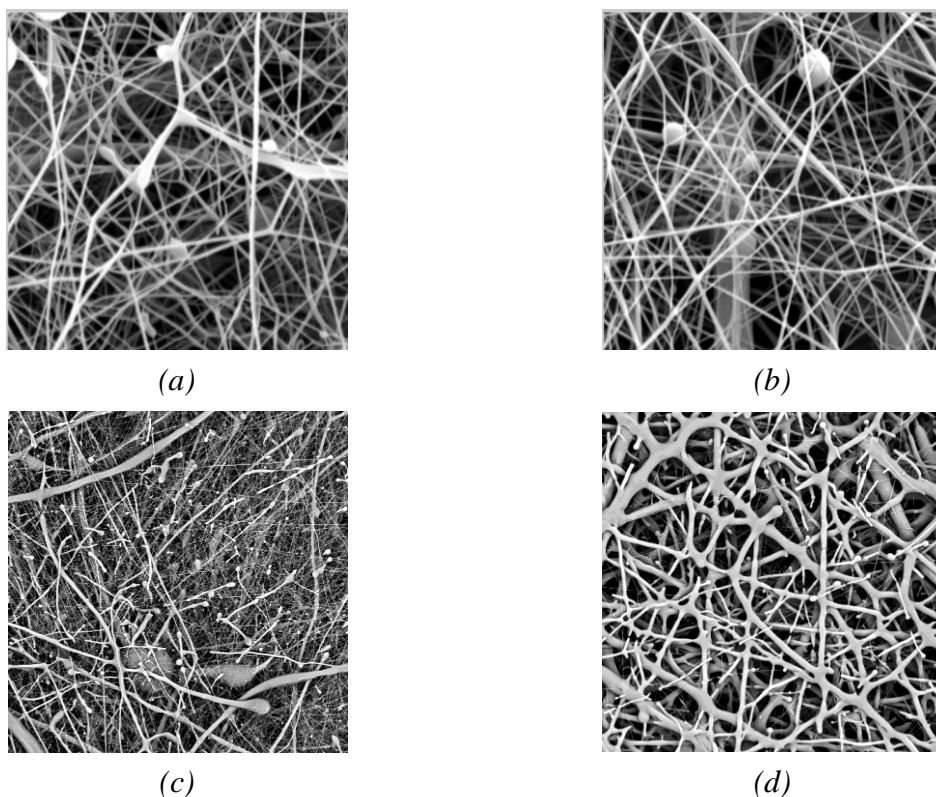
$$m_{pq} = \sum_x \sum_y x^p y^q f(x, y). \quad (9)$$

Charakteristiky objektů v obraze jsou určeny hodnotami obecných momentů, například moment m_{00} vyjadřuje plochu objektu v binárním obraze. Centrální momenty prvního a druhého řádu jsou vhodné pro popis orientace objektů v obraze. Orientace objektu nebo oblasti zájmu mezi osou x a hlavní poloosou elipsy je dle [7] dána vztahem

$$\theta = \frac{1}{2} \arctan \left(\frac{2\mu_{11}}{\mu_{20} - \mu_{02}} \right). \quad (10)$$

Orientace vláknenné struktury se shoduje s převládajícími směry jednotlivých objektů v binárním obraze. Aplikace určení orientace vláken v prostředí programu MATLAB a programu ImageJ je uvedena v následující části práce.

Navržená metoda stanovení orientace vláken v nanovláknenné vrstvě použitím dvou programových prostředí byla aplikována na čtyřech monochromatických snímcích nanovláknenných vrstev. Nanovláknenné vrstvy zhotovené pro demonstraci obrazové analýzy vedoucí ke zjištění orientace vláken se vzájemně liší koncentrací PCL, polymer určený ke zvláknění byl o koncentraci 14%, 16%, 18% a 20% PCL. Jednotlivé monochromatické snímky určené k vyhodnocení směrovosti jsou uvedeny na obr. 58(a)-(d).

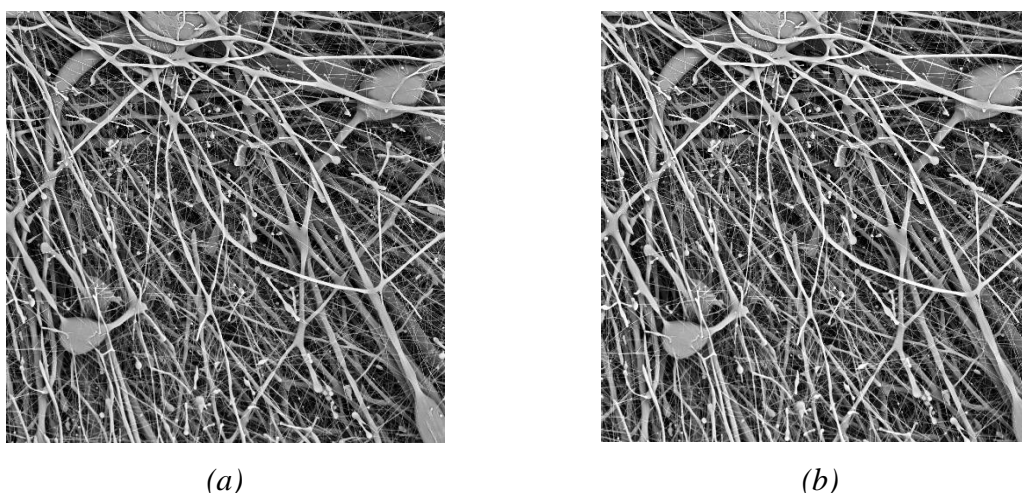


Obr. 58 Vstupní monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c), 20% PCL (d).

4.6.1 Stanovení orientace vláken v programu MATLAB

Orientace vláknenných struktur je zpravidla určena globálně, z celého snímku nanovláknenné struktury. Vzhledem k rozmanitosti nanovláknenné vrstvy je požadovaná podrobnější analýza struktury, proto byl tento způsob upraven. Vstupní obraz byl rozdělen do mnoha podobrazů, kterým byla stanovena vlastní orientace.

Pro demonstraci metody stanovení orientace vláken byl zvolen monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy o koncentraci 18% PCL. Vstupní snímek na obr. 59(a) má velikost 500x500 pixelů. Prvním krokem, který následoval po načtení snímku do prostředí programu MATLAB bylo zvýšení kontrastu obrazu. Na obr. 59(b) je znázorněn snímek 18% PCL po změně kontrastu.

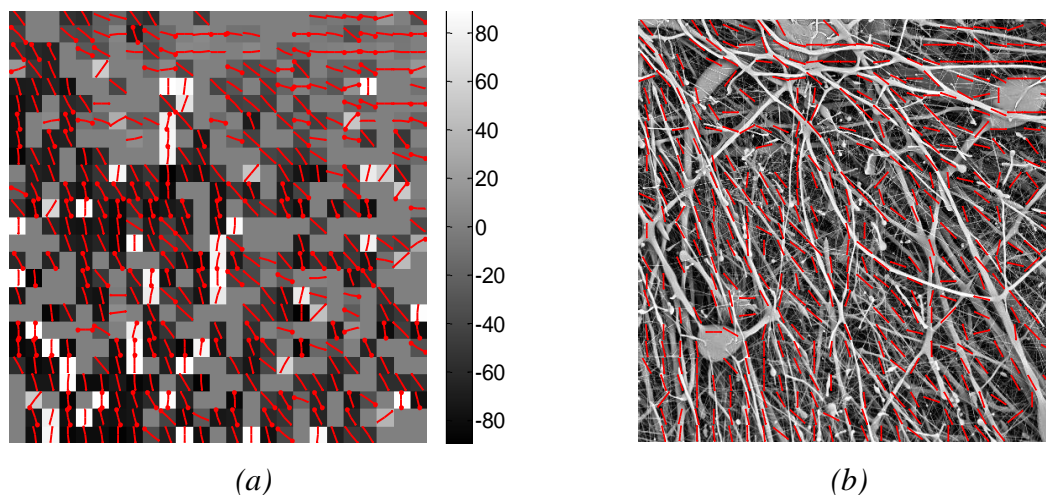


Obr. 59 Vstupní obraz nanovláknenné vrstvy 18% PCL (a), obraz se zvýšeným kontrastem (b).

Jak bylo řečeno dříve, stanovení orientace nanovláknenných vrstev nelze přesně kvalifikovat na základě Fourierovy transformace aplikované na obraz v celém jeho rozsahu. Pro přesné určení směru nanovláken bylo nutné rozdělit vstupní obraz na mnoho podobrazů. Rozdělení vstupního snímku bylo realizováno prostřednictvím definovaného okna čtvercového tvaru o rozměrech 10x10 pixelů nebo 20x20 pixelů. V každém vytvořeném podokně monochromatického snímku byla provedena Fourierova transformace. Převládající orientace vláken v jednotlivých podoknech je graficky znázorněna pomocí směrového vektoru.

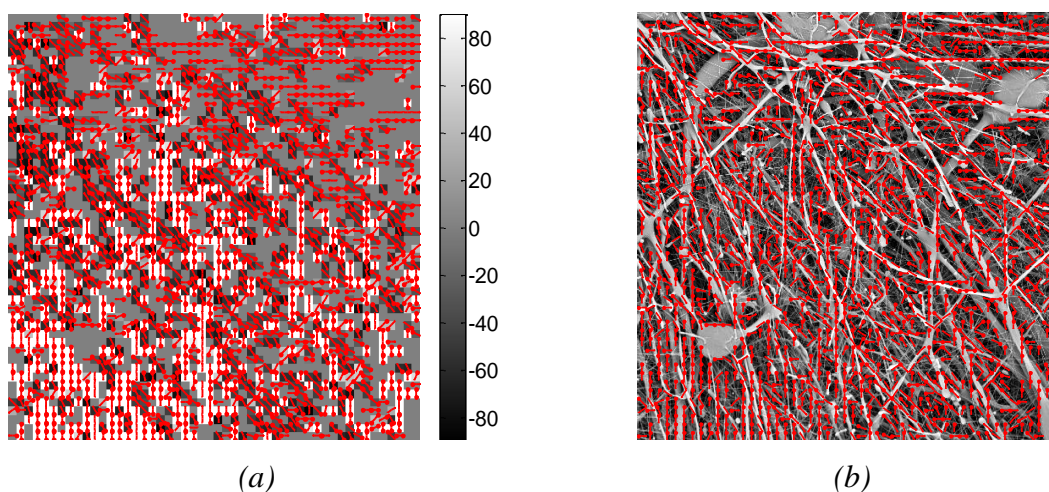
Znázornění směrových vektorů je limitováno splněním podmínky, že poměr hlavní a vedlejší poloosy elipsy definující tvar vysokých hodnot frekvenční oblasti jednotlivých podobrazů je větší než 2. Pokud je poměr hlavní a vedlejší osy elipsy roven 1, jedná se

o náhodnou strukturu, vysoké hodnoty komponent frekvenční oblasti tvoří kruh, čím je vzájemný poměr os vyšší, tím je elipsa monitorující tvar protáhlejší. Na obr. 60(a) jsou červenou barvou znázorněny směrové vektory jednotlivých podoken obrazu o velikosti 20x20 pixelů. Znázornění směrových vektorů v původním šedotónovém obraze je uvedeno na obr. 60(b).



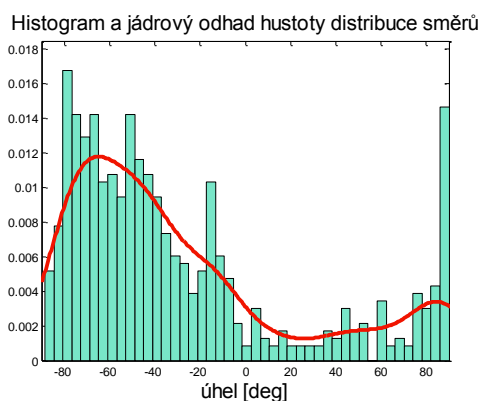
Obr. 60 Směrové vektory jednotlivých podoken obrazu o rozměrech 20x20 pixelů (a), vykreslení směrových vektorů v původním obraze (b).

Na obr. 61(a),(b) jsou červeně vykresleny směrové vektory obrazu určené pomocí podoken o velikosti 10x10 pixelů. Orientace směrových vektorů je na obrázcích obr. 60(a) a 61(a) pro větší přehlednost interpretována pomocí šedotónové škály.

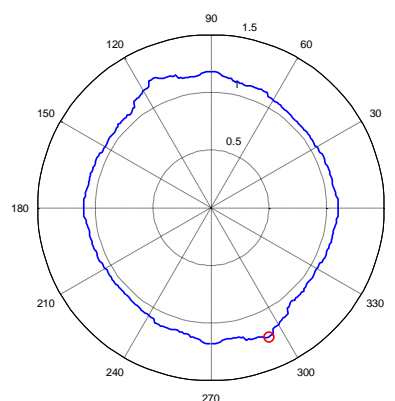


Obr. 61 Směrové vektory jednotlivých podoken obrazu o rozměrech 10x10 pixelů (a), vykreslení směrových vektorů v původním obraze (b).

Na základě nalezených směrových vektorů bylo možné sestavit histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů. Dále byl sestaven polární diagram, ze kterého je na první pohled viditelné směrové uspořádání nanovláknenné vrstvy. Na obrázku obr. 62(a) je znázorněn histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů, na obr. 62(b) polární diagram směrů vrstvy 18% PCL za použití podokna o velikosti 20x20 pixelů.



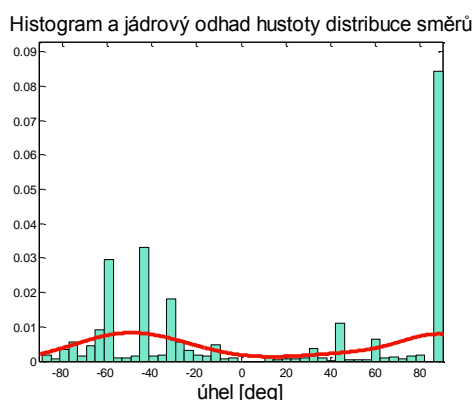
(a)



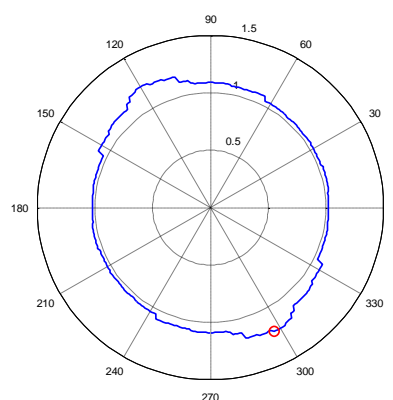
(b)

Obr. 62 Histogram a jádrový odhad distribuce směrů vyhledaných oknem 20x20 pixelů (a), polární diagram směrů vyhledaných oknem 20x20 pixelů (b).

Na obrázku obr. 63(a) je uveden histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů ve vrstvě 18% PCL, na obr. 63(b) polární diagram směrů nanovláknenné vrstvy 18% PCL za použití podokna o velikosti 10x10 pixelů. Na základě uvedených obrázků lze stejně jako v práci [7] konstatovat, že velikost vyhledávacího okna má vliv na přesnost výsledků, čím je velikost podokna větší, tím se stávají výsledky nepřesnějšími.



(a)



(b)

Obr. 63 Histogram a jádrový odhad distribuce směrů vyhledaných oknem 10x10 pixelů (a), polární diagram směrů vyhledaných oknem 10x10 pixelů (b).

Uvedený postup stanovení orientace vláken lze zapsat dle následujícího algoritmu skládajícího se z několika posloupných kroků. K jednotlivým krokům jsou přiřazeny zaimplementované funkce prostředí programu MATLAB určené k jejich realizaci. Skript vytvořený na základě algoritmu je přiložen v příloze 5.

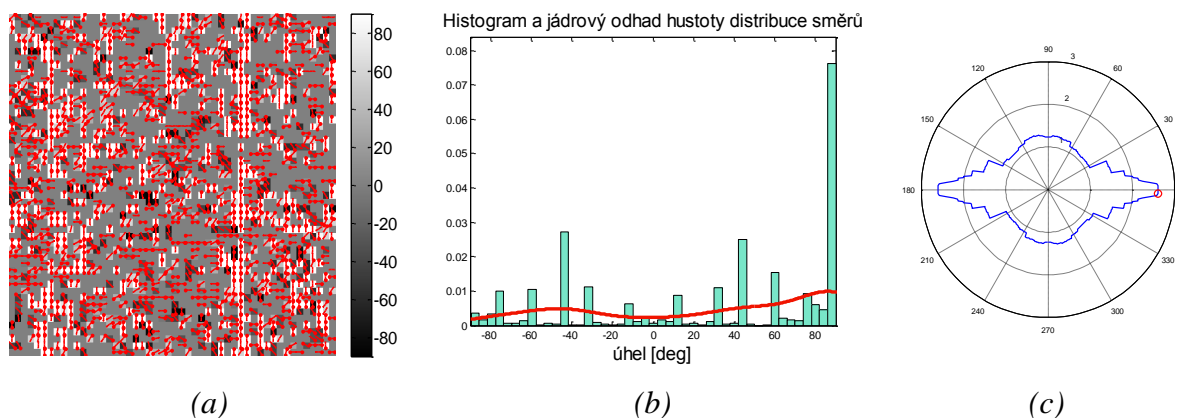
- Uprav kontrast vstupního snímku (`imadjust.m`).
- Definuj velikost okna ohraničující oblasti, pro které má být určena orientace.
- Pro jednotlivé podobrazy proved' 2D Fourierovu transformaci (`fft2.m`).
- Přiřaď počátek oblasti frekvenčních polí do středu podobrazu (`fftshift.m`).
- Zredukuj dynamický rozsah koeficientů logaritmickou transformací.
- Najdi hlavní a vedlejší osu elipsy definující tvar frekvenční oblasti.
- Definuj nejnižší přijatelný poměr hlavní a vedlejší osy elipsy (`regionprops.m`).
- Přiřaď směrový vektor jednotlivým frekvenčním oblastem.
- Vytvoř histogram distribuce směrů vláken a proved' jádrový odhad hustoty.
- Vytvoř polární diagram orientace vláken.

4.6.2 Výsledky stanovení orientace nanovláken v MATLABU

Velikost snímků 14% PCL a 16% PCL je 1000x1000 pixelů, vzhledem ke složitosti aplikovaného algoritmu vedoucího ke zjištění orientace vláken nebylo možné na těchto snímcích aplikovat Fourierovu transformaci pro obraz rozdělený podokny o velikosti 10x10 pixelů, zpracování velkého množství dat bylo v prostředí programu MATLAB výpočetně náročné. Z tohoto důvodu bylo pro snímky 14% PCL a 16% PCL zvoleno podokno o velikosti 20x20 pixelů. Pro snímky 18% PCL a 20% PCL bylo možné použít podokno velikosti 10x10 pixelů, vzhledem k tomu, že dosahují velikosti 500x500 pixelů a program MATLAB byl schopen vyhodnotit informace získané obrazovou analýzou.

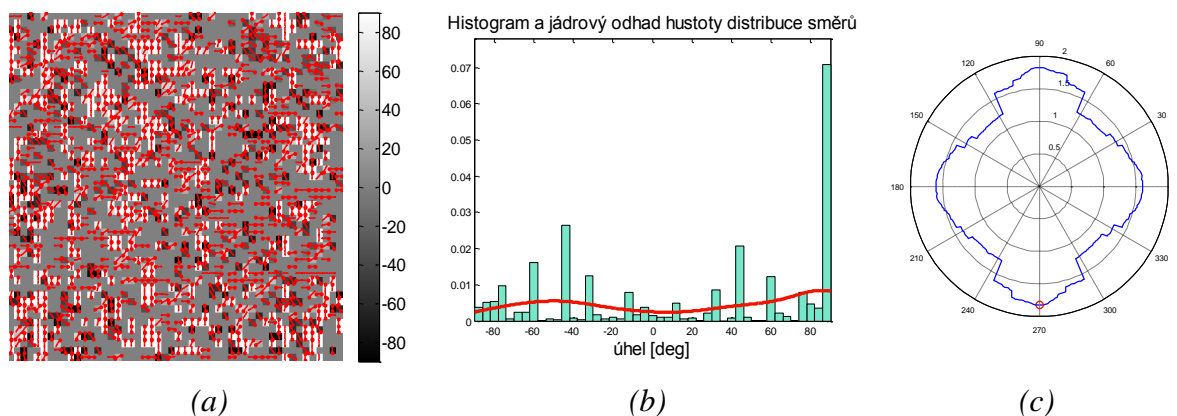
Ve všech případech bylo vykreslení směrových vektorů jednotlivých podoken snímků limitováno splněním podmínky, že poměr hlavní a vedlejší osy elipsy oblasti zájmu je větší než 2.

Vlákna zobrazená na snímku 14% PCL vykazují na základě histogramu distribuce směrů a jádrovém odhadu hustoty na obr. 64(b) nejvyšší orientaci kolem 80°, na základě polárního diagramu obr. 64(c) lze konstatovat, že ve vrstvě převažuje horizontální směr vláken. Směrové vektory jednotlivých podoken zkoumaného snímku jsou zobrazeny na obr. 64(a).



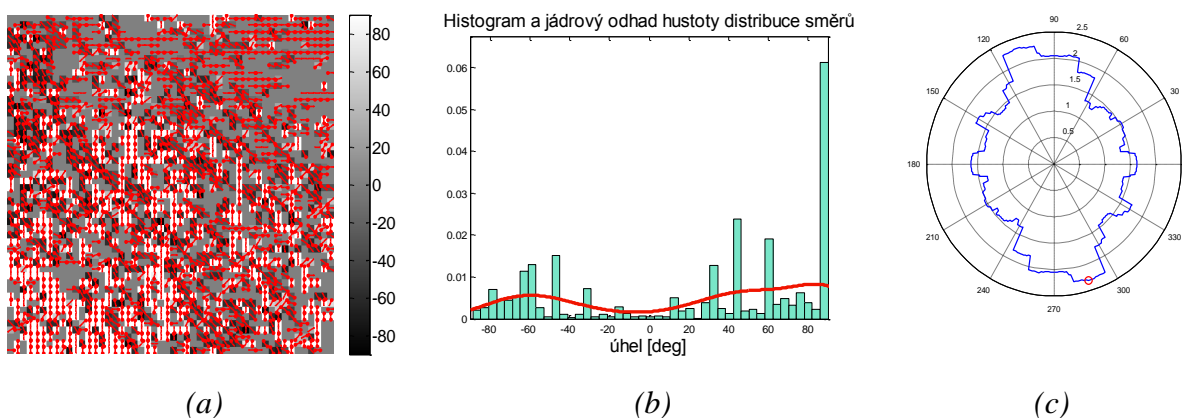
Obr. 64 Směrové vektory jednotlivých podoken vstupního obrazu vláken 14% PCL (a), odpovídající histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů (b), polární diagram (c).

Na obr. 65(a) jsou zobrazeny nalezené směrové vektory odpovídající orientaci vláken v podoknech monochromatického snímku 16% PCL. Ze snímku 16% PCL lze na základě histogramu distribuce směrů a jádrového odhadu hustoty obr. 65(b) konstatovat, že nejvíce vláken má orientaci okolo -40° a 50° . Z polárního diagramu uvedeného na obr. 65(c) vyplývá, že jsou vlákna orientována v horizontálním i vertikálním směru, orientace ve vertikálním směru lehce převažuje.



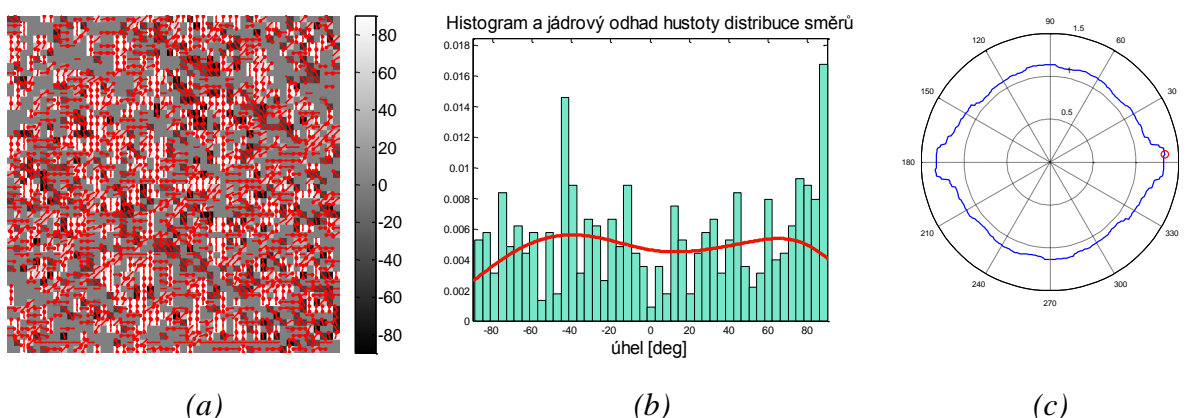
Obr. 65 Směrové vektory jednotlivých podoken vstupního obrazu vrstvy 16% PCL (a), histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů (b), polární diagram (c).

Na základě histogramu distribuce směrů a jádrového odhadu hustoty zobrazeného na obr. 66(b) snímku 18% PCL lze říci, že je nejvíce vláken orientováno ve směru 40° . Z polárního diagramu obr. 66(c) vyplývá, že jsou vlákna orientována převážně ve vertikálním směru s 20° vychýlením vlevo. Směrové vektory stanovené pro jednotlivá podokna vstupního obrazu jsou uvedeny na obr. 66(a).



Obr. 66 Směrové vektory jednotlivých podoken (a), histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů vláken 18% PCL (b), polární diagram směrů (c).

Na obr. 67(a) jsou zobrazeny nalezené směrové vektory odpovídající orientaci vláken v podoknech monochromatického snímku 20% PCL. Orientace vláken ve vrstvě 20% PCL je téměř náhodná, toto tvrzení lze potvrdit na základě polárního diagramu uvedeného na obr. 67(c). Na obr. 67(b) je zobrazen histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů.



Obr. 67 Směrové vektory nalazené pro jednotlivá podokna obrazu vrstvy 20% PCL (a), histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů (b), polární diagram (c).

Na základě provedené obrazové analýzy byla identifikována orientace jednotlivých snímků nanovlákných vrstev lišících se koncentrací PCL. Vzhledem k výsledkům obrazové analýzy lze říci, že je orientace vláken na jednotlivých zkoumaných snímcích rozdílná. Otázkou zůstává, jestli je orientace vláken ovlivněna koncentrací zvláknovacího polymeru, nebo se jedná o náhodný jev.

4.6.3 Stanovení orientace nanovláken v ImageJ – *OrientationJ*

Určení orientace vláken v prostředí programu ImageJ je složitý proces. Stejně jako tomu bylo u vyhledání defektů pomocí srovnání se vzorem i k určení orientace jsou online dostupné pluginy. Prvním z nalezených pluginů je *OrientationJ*, plugin se po instalaci zobrazí v *Plugins* → *OrientationJ* a uživateli nabízí čtyři funkce zabývající se směrovostí vláken. Mezi nabízené funkce tohoto pluginu patří

- *Analysis*,
- *Distribution*,
- *Corner Harris*,
- *Measure*.

Analysis

Vizuální režim *Analysis* zobrazí pomocí barevných map orientaci, sytost koherence a jas vstupního obrazu.

Distribution

Pomocí funkce *Distribution* je možné vyhodnotit orientaci pro každý pixel obrazu, výstupem je histogram distribuce směrů.

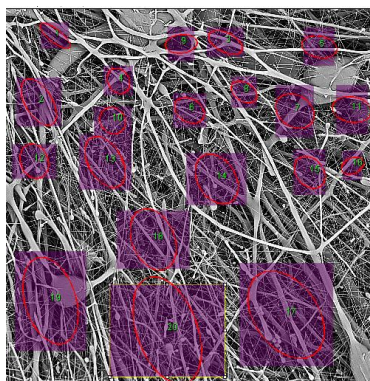
Corner Harris

Funkce *Corner Harris* slouží k hledání objektových rohů v obraze.

Measure

Díky této funkci je možné manuálně určit orientaci vláken pro jednotlivě vybrané oblasti vstupního obrazu. Na obrázku obr. 68(a) je zobrazen snímek 18% PCL, na kterém byly aplikována ruční metoda stanovení orientace vláken. Pomocí myši byly označeny jednotlivé oblasti 1 až n , pro které byla díky kliknutí na *Measure* v dialogovém okně obr. 68(b), stanovena průměrná orientace vláken v podokně, dále došlo k vykreslení tvaru elipsy odpovídající tvaru do vstupního obrazu. Tato metoda je zdoluhavá a náročná vzhledem k subjektivnímu hodnocení.

Manuální metoda vyhodnocení směru vláken nebyla v práci použita, pro vyhodnocení orientace v programu ImageJ byly hledány automatické metody.



(a)

No.	Xc	Yc	Zc	Zone	Ellip...	Prefilter	Energy	Orientation	Coherency
1	75	36	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	12259.00	-38.44	0.497
2	53	126	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	15313.86	-58.74	0.325
3	306	45	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	15309.14	-26.51	0.313
4	161	97	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	14461.95	-60.70	0.120
5	433	51	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	13263.33	-11.40	0.257
6	257	137	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	17917.30	-30.46	0.159
7	400	138	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	13736.47	-33.04	0.139
8	331	112	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	17960.25	-31.65	0.214
9	246	47	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	9753.77	6.20	0.270
10	153	151	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	17762.53	-54.82	0.061
11	477	136	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	12627.36	-9.39	0.219
12	47	206	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	15263.38	-69.77	0.129
13	143	207	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	18770.59	-59.69	0.256
14	294	230	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	16602.28	-57.60	0.179
15	420	221	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	16204.01	-47.90	0.140
16	478	212	1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	13561.73	26.69	0.207

(b)

Obr. 68 Snímek 18% PCL s vykreslenými elipsami reprezentujícími směry vybraných oblastí (a), dialogové okno OrientationJ Measure s výsledky (b).

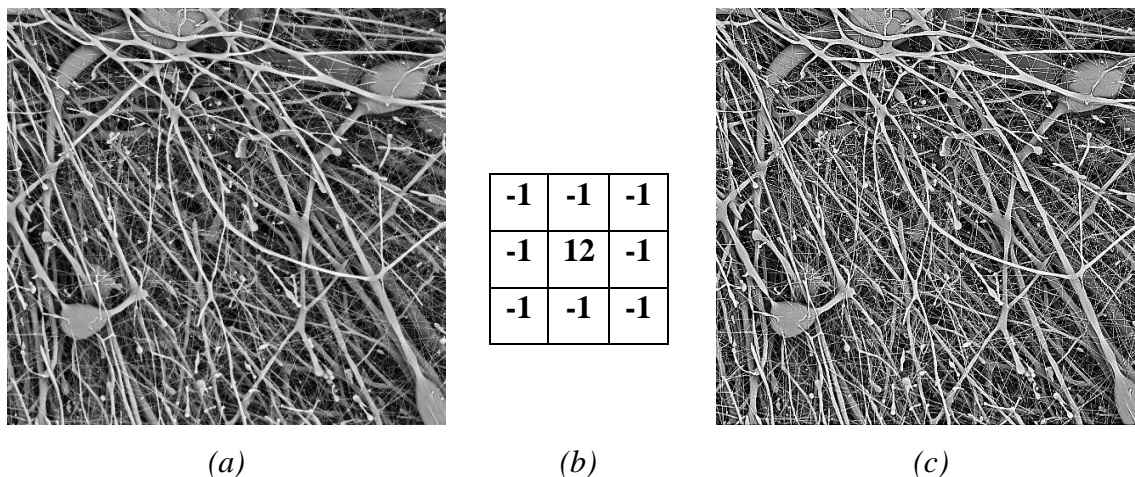
Orientace vláken byla v prostředí programu ImageJ stanovena pro stejné monochromatické snímky jako tomu bylo v prostředí programu MATLAB. Mezi zkoumané snímky patří snímek 14%, 16%, 18% a 20% PCL. Jednotlivé kroky vedoucí k určení směrovosti v prostředí programu ImageJ jsou popsány v následujícím textu. Jako demonstrativní obraz byl pro realizaci navržené metodiky zvolen monochromatický snímek nanovlákněné vrstvy 18% PCL.

Image → Crop

Prvním krokem, který následoval po načtení monochromatického obrazu 18% PCL do prostředí programu ImageJ bylo ořezání snímku. Vstupní snímek byl pomocí nástroje *Rectangular selections* označen a příkazem *Crop* v nabídce *Image* manuálně oříznut na velikost 500x500 pixelů, ořezaný snímek je uveden na obr. 69(a).

Process → Sharpen

V následujícím kroku došlo prostřednictvím příkazu *Sharpen* v nabídce *Process* k automatickému zvýšení kontrastu obrazu a zvýraznění detailů v obraze. Princip filtru *Sharpen* je založen na nahrazení každého obrazového pixelu váženým průměrem z jeho okolí o velikosti 3x3 pixely. Schéma filtru *Sharpen* je zobrazeno na obr. (b), obraz se zvýšeným kontrastem je uveden na obr. 69(c).

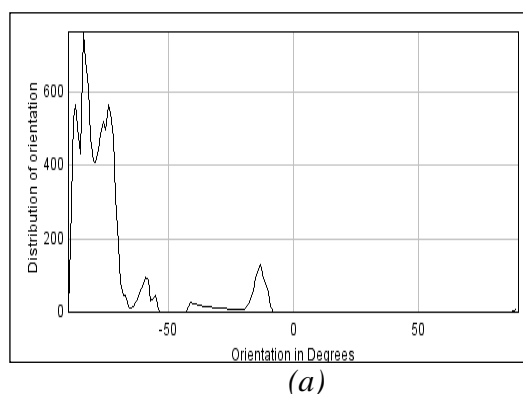


Obr. 69 Vstupní obraz nanovláknenné vrstvy 18% PCL (a), schéma filtru Sharpen (b), obraz po zvýšení kontrastu (c).

Plugins → OrientationJ → Distribution

Zvolením funkce *Distribution* v nabídce *Plugins → OrientationJ* došlo k zobrazení dialogového okna *OrientationJ Distribution*. V tomto dialogovém okně je možné zvolit velikost podokna, pro které má být stanoven směr (*Structure Tensor*) a gradient, dle kterého dojde ke klasifikaci. V našem případě byla velikost podokna zvolena 10x10 pixelů a vyhodnocení bylo realizováno použitím Fourierova gradientu.

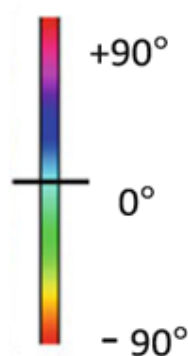
Výstupem vyhodnocení orientace pomocí *Distribution* je histogram distribuce orientace uvedený na obr. 70. Úhly jsou vykazovány ve společném matematickém vyjádření, 0° značí východní směr orientace, přibývání stupňů je realizováno proti směru hodinových ručiček.



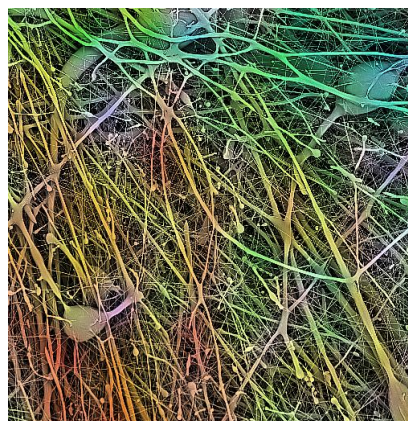
Obr. 70 Histogram distribuce orientace vláken ve vrstvě 18% PCL.

Místa vykazující stejnou orientaci jsou ve vstupním obraze označena pomocí RGB spektra uvedeného na obr. 71(a). Aplikace RGB mapy na vstupní obraz vedoucí k označení

oblastí vykazujících stejnou orientaci shodným odstínem ze spektra je uvedena na obr. 71(b).



(b)



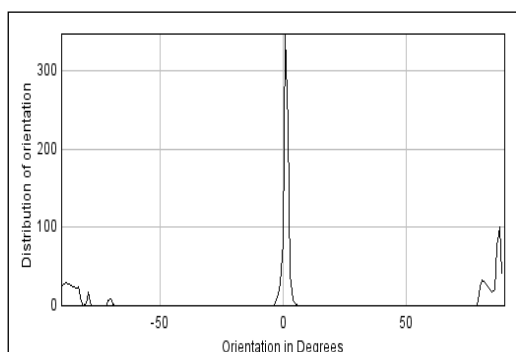
(c)

Obr. 71 RGB spektrum sloužící ke grafické interpretaci orientace (a), mapa směrů vláken aplikovaná na vstupní obraz (b).

Analýza zaměřená na orientaci vláken byla v prostředí programu ImageJ stanovena pro stejné snímky jako tomu bylo v prostředí programu MATLAB. Zkoumané snímky 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL jsou uvedeny dříve na obr. 58(a)-(d). Postup stanovení orientace vláken v prostředí programu ImageJ je založen na volně dostupném pluginu *OrientationJ*. Díky aplikaci tohoto pluginu byly stanoveny následující závěry vyhodnocení orientace vláken jednotlivých nanovláknenných vrstev.

Na obrázcích obr. 72(a),(c),(e),(g), jsou uvedeny histogramy distribuce směrů vláken 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL. Na obrázcích obr. 72(b),(d),(f),(h), jsou do vstupního monochromatického snímku vykresleny RGB mapy, ve kterých jsou pomocí barev znázorněny plochy vrstvy vykazující stejnou orientaci. Z uvedených histogramů je viditelné, že se orientace vláken vzhledem ke zvolenému snímku nanovláknenné vrstvy liší.

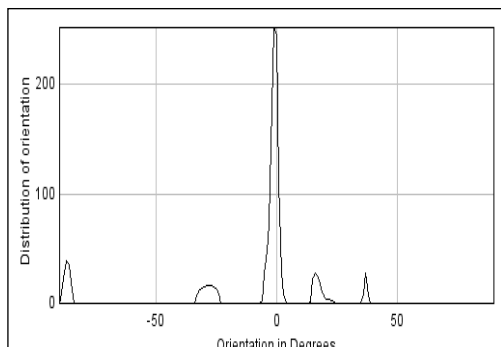
Orientace vrstvy 14% PCL se na základě obr. 72(a) jeví jako horizontální, z histogramu je patrné, že nejvíce vláken vykazuje směr 0° . Nanovláknenná vrstva 16% PCL vykazuje na základě obr. 72(c) stejně jako v předešlém případě převážně vertikální směr, ale je zde vyšší výskyt vláken orientovaných horizontálně. Orientace vláken 18% PCL je na základě histogramu uvedeného na obr. 72(e) převážně vertikální. Na rozdíl od ostatních vrstev, ze snímku vrstvy 20% PCL je patrné, že je orientace vláken náhodná, vlákna jsou dle histogramu uvedeného na obr. 72(g) orientované ve všech směrech.



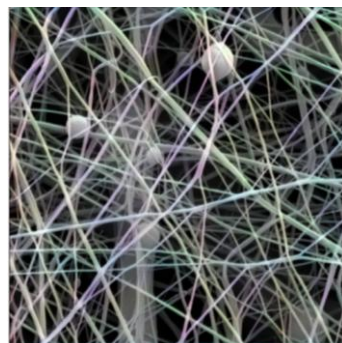
(a)



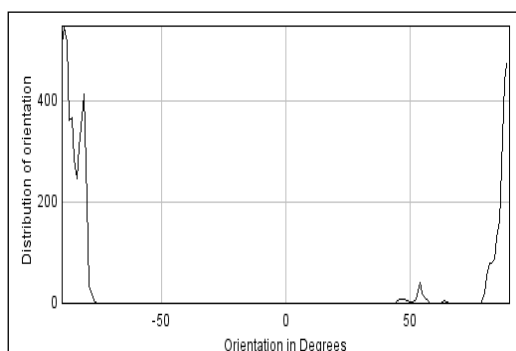
(b)



(c)



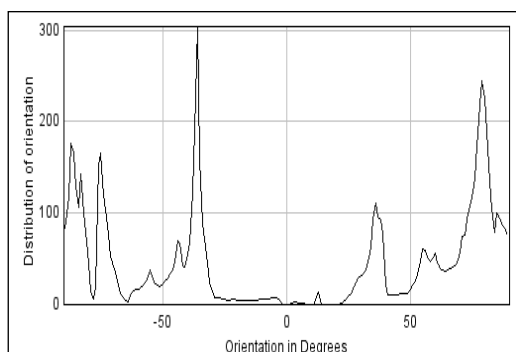
(d)



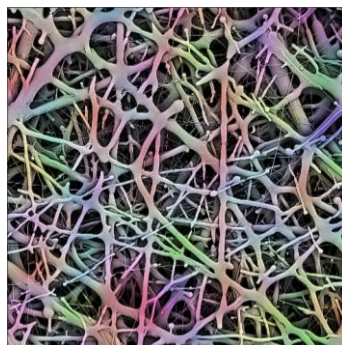
(e)



(f)



(g)



(h)

Obr. 72 Histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 14% PCL (a),(b), histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 16% PCL (c),(d), histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 18% PCL (e),(f), histogram orientace a RGB mapa směrů 20% PCL (g),(h).

Stanovení orientace v prostředí programu ImageJ použitím pluginu OrientationJ je na rozdíl od stanovení orientace vláken v prostředí programu MATLAB jednodušší, uživatel není nucen vytvářet složitý algoritmus. Nevýhodou analýzy v ImageJ je absence znázornění výsledků pomocí jiného statistického nástroje než histogramu.

4.6.4 Stanovení orientace nanovláken v ImageJ - *Directionality*

Druhým nalezeným pluginem, který umožňuje automatizované vyhodnocení orientace nanovláken ve vlákenné vrstvě je volně dostupný plugin *Directionality*. *Directionality* je součástí online dostupného balíčku *Fiji* obsahujícího velké svazky pluginů usnadňující získání informací objektů zájmu ze zkoumaného obrazu.

Plugin *Directionality* je možný vyhodnotit orientaci vláken na základě dvou přístupů, prvním přístupem je Fourierova analýza komponent, druhým je určení místního sklonu orientace. V našem případě byla směrovost zjišťována pomocí analýzy Fourierova spektra. Kroky vedoucí k zjištění orientace vláken na základě pluginu *Directionality* jsou uvedeny v následujícím textu.

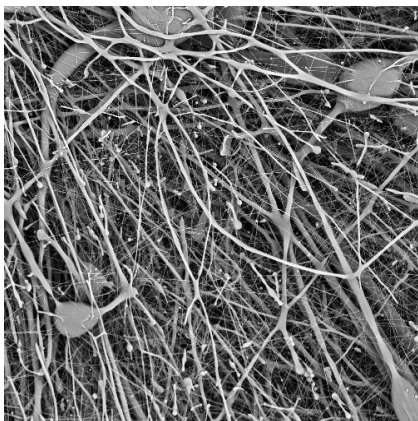
Stejně jako tomu bylo u demonstrace metody stanovení orientace vláken v programu ImageJ použitím pluginu *OrientationJ* i průběh následující metody byl testován na snímku 18% PCL uvedeného na obr. 73(a).

Image → Crop

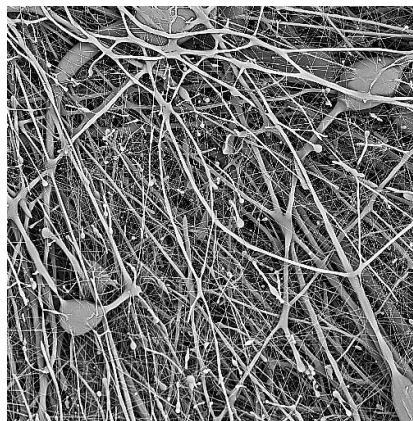
Prvním krokem, který byl proveden po načtení monochromatického snímku do prostředí programu ImageJ bylo ořezání obrazu na velikost 500x500 pixelů.

Process → Sharpen

V následujícím kroku byl automaticky zvýšen kontrast obrazu použitím vestavěného filtru *Sharpen*. Princip filtru byl uveden v předcházející kapitole. Vstupní monochromatický obraz po zvýšení kontrastu je znázorněn na obr. 73(b).



(a)



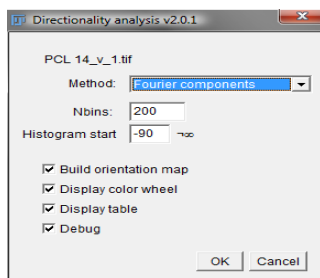
(b)

Obr. 73 Vstupní monochromatický obraz nanovláknenné vrstvy 18% PCL (a), obraz po zvýšení kontrastu (b).

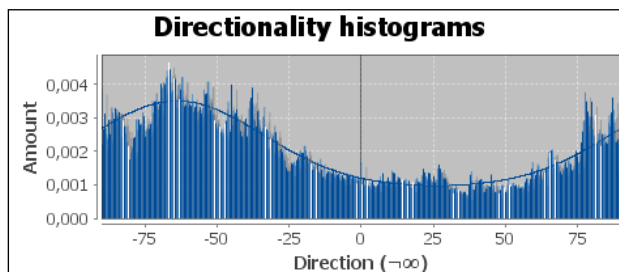
Analyze → Directionality

Modul *Directionality* umístěný v nabídce *Analyze*, je určen k odvození preferované orientace struktur přítomných ve vstupním obraze. Dialogové okno *Directionality analysis* zobrazené na obr. 74(a), umožňuje uživateli nastavit jeden ze dvou dříve uvedených způsobů, na základě kterých dojde k vyhodnocení směrovosti, v případě práce byl zvolen *Fourier components*. Dále je možné nastavit počet oken, pro které má být směrovost vyhodnocena (*Nbins*), orientace zkoumaných snímků byla stanovena na základě 200 měření.

Výstupem analýzy směrovosti je histogram zobrazující množství struktur v dané orientaci obr. 74(b). Vstupní obrazy zachycující vlákna struktury uspořádané všemi směry vykazují plochý histogram, struktury, ve kterých jsou vlákna orientována v převládajícím směru, se vyznačují histogramem s jasným vrcholem.



(a)



(b)

Obr. 74 Dialogové okno *Directionality analysis* (a), histogram směrovosti 18% PCL (b).

Dalším výstupem je RGB mapa orientace zobrazená na vstupním obraze. Pomocí spektra barev uvedeného na obr. 75(a), jsou znázorněny převažující směry nanovláknenné vrstvy. Vlákenná vrstva s uvedenými směry zobrazenými pomocí RGB mapy je znázorněna na obr. 75(b). Posledním výstupem je tabulka, ve které je uvedena průměrná orientace vláknenné vrstvy ve stupních, průměrná orientace vláken zachycených na demonstrativním snímku je -63° .



(a)



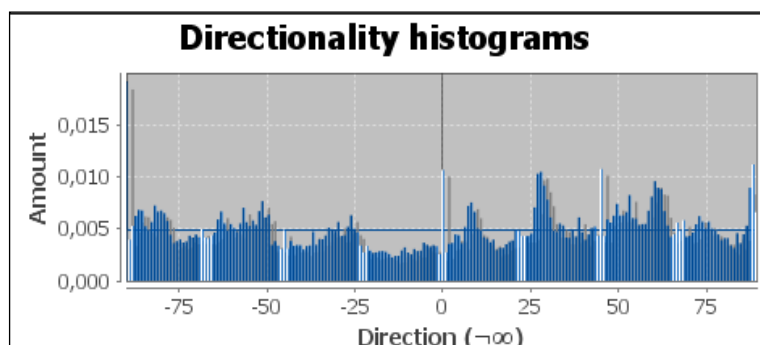
(b)

Obr. 75 Spektrum barev (a), RGB mapa směrů znázorněná ve vstupním obraze.

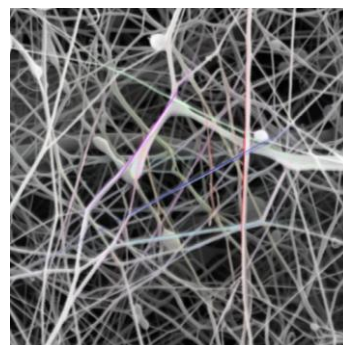
Analýza zaměřená na orientaci vláken realizovaná v prostředí programu ImageJ pomocí pluginu *Directionality* byla stanovena pro stejné snímky, jako tomu bylo při použití pluginu *OrientationJ* a prostředí programu MATLAB.

Zkoumané snímky 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL jsou uvedeny dříve na obr. 58(a)-(d). Aplikací pluginu *Directionality* byly zjištěny následující informace týkající se orientace vláken v jednotlivých nanovláknenných strukturách.

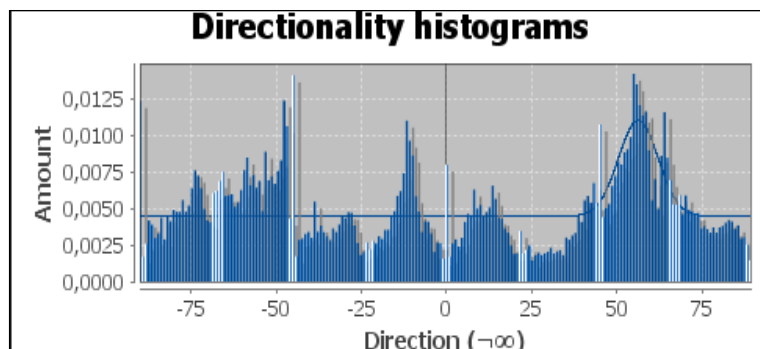
Vlákenná struktura 14% PCL má dle histogramu uvedeného na obr. 76(a) vlákna orientovaná ve všech směrech. V RGB mapě je vidět více zobrazených směrů obr. 76(b). Orientace vláken na snímku 16% PCL se dle histogramu obr. 76(c) dá odhadnout ve dvou směrech a to v -50° a v 50° , tyto směry jsou barevně vyznačeny na obr. 76(d). Orientace vláken 18% PCL je uvedena na obr. 76(e),(f), z obrázků je patrný převládající směr v rozmezí od -50° do -70° . Z histogramu směrovosti obr. 76(g) a RGB mapy orientace vláken 20% PCL obr. 76(h), je zřejmé, že se vláknenné struktury vyskytují vlákna ve všech směrech přibližně ve stejném zastoupení.



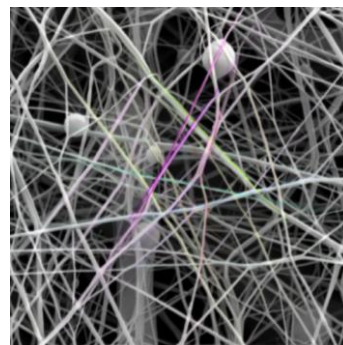
(a)



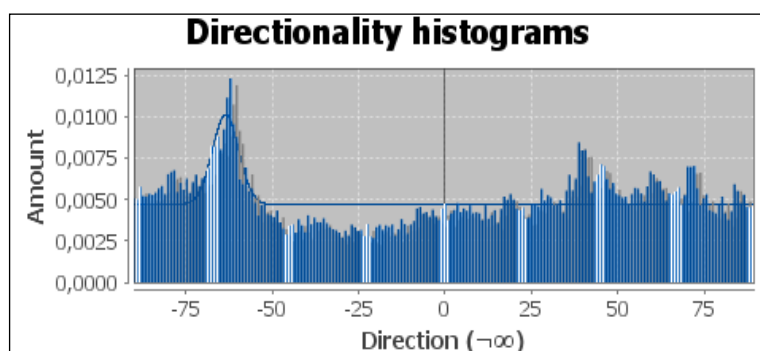
(b)



(c)



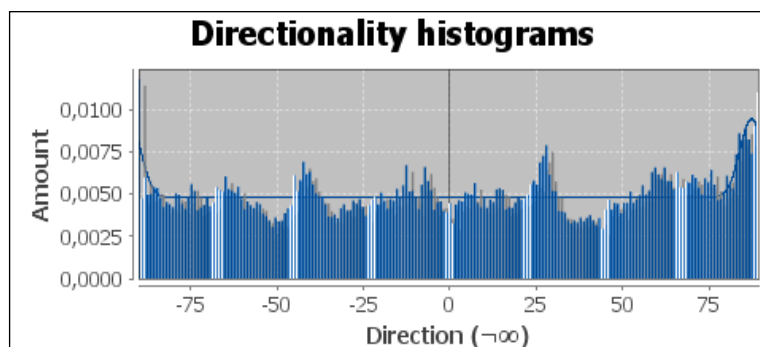
(d)



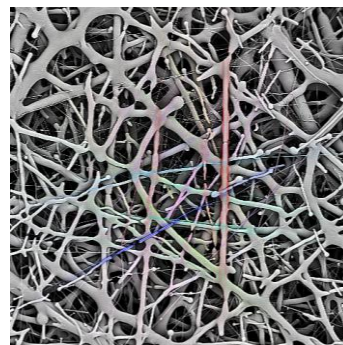
(e)



(f)



(g)



(h)

Obr. 76 Histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 14% PCL (a),(b), histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 16% PCL (c),(d), histogram orientace a RGB mapa směrů vláken 18% PCL (e),(f), histogram orientace a RGB mapa směrů 20% PCL (g),(h).

Na rozdíl od pluginu *OrientationJ*, plugin *Directionality* poskytuje možnost shrnutí výsledků měření orientace a je schopen zobrazit průměrnou orientaci vláken ve vrstvě spolu s uvedením směrodatné odchylky. V tabulce tab. 10, jsou uvedeny průměrné hodnoty směrovosti vláken jednotlivých snímků PCL.

Tab. 10 Průměrné hodnoty orientace vláken v závislosti na koncentraci PCL.

Koncentrace	Směrovost [°]	Std [°]
14 PCL [%]	-90.34	0.95
16 PCL [%]	56.24	2.41
18 PCL [%]	-63.48	1.95
20 PCL [%]	-92.78	1.84

Stanovení orientace vláken v programu ImageJ použitím pluginu *Directionality* se jeví jako vhodnější metoda než stanovení použitím pluginu *OrientationJ*. Modul *Directionality* má srozumitelnější uživatelské rozhraní. Nevýhody stanovení orientace v prostředí ImageJ oproti stanovení orientace v prostředí MATLAB jsou i v tomto případě stejné, je to hlavně absence interpretace dat jiným nástrojem než histogramem.

4.7 Zhodnocení extrakce orientace nanovláken

Vyhodnocení orientace nanovláken ve vlákněné vrstvě je možné realizovat použitím rozličných programů, v této práci byl pro vyhodnocení orientace vláken použit nejprve program MATLAB, poté program ImageJ. Orientace byla stanovena pro monochromatické snímky nanovlákněných vrstev o koncentraci 14%, 16%, 18% a 20% PCL.

V obou programech byly navrženy metodiky zpracování obrazu nesoucí podobné kroky a využívající stejné nástroje zpracování obrazu, jakými je například automatické zvýšení kontrastu snímků. Směrovost byla ve všech navržených metodikách analyzována pomocí Fourierova spektra.

V prostředí programu MATLAB byla Fourierova transformace aplikována na vytvořené podobrazy, ze získaných informací o orientaci vláken v jednotlivých podobrazech byl sestaven histogram a jádrový odhad hustoty distribuce směrů, pro lepší čitelnost výsledků byla orientace vláken vyjádřena pomocí polárního diagramu.

V prostředí programu ImageJ bylo stanovení orientace vláken realizováno použitím dvou volně dostupných rozšiřovacích modulů – pluginů. Mezi použité pluginy patří

OrientationJ a *Directionality*. Oba pluginy umožňují uživateli detekovat orientaci vláken nanovláknenné vrstvy pomocí užití Fourierova gradientu. Uživatelsky přístupnější a lépe ovladatelný se však jevil plugin *Directionality*.

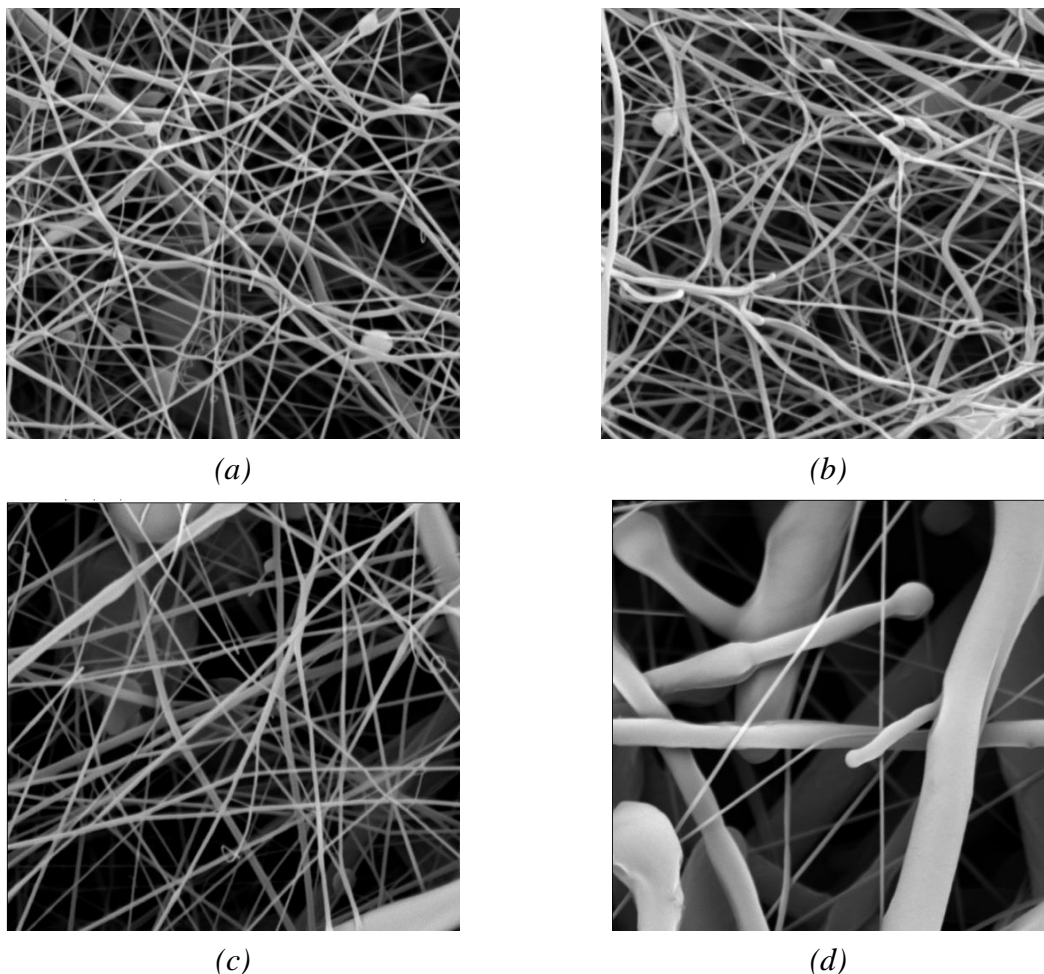
Na základě stanovených výsledků lze konstatovat, že všechny testované metodiky vykazují podobné výsledky o směrovosti vláken v jednotlivých zkoumaných nanovláknenných snímcích. Výhodou zpracování obrazu v programu MATLAB je jeho dobrá reprodukovatelnost a široké spektrum možností reprezentace výsledků. Program ImageJ je, co se týká reprezentace výsledků méně vybaven, orientace vláken je srozumitelněji vyložena v programu MATLAB pomocí polárního diagramu, ten však nebylo v tomto programu možné vytvořit. Výhodou zjišťování orientace vláken v programu ImageJ je, že se celá analýza skládá jen z několika málo kroků, na rozdíl od programu MATLAB, který pracuje na základě složitého algoritmu.

4.8 Extrakce průměrů nanovláken

Průměr vláken je jedním ze základních strukturních parametrů, od kterého se odvíjí vlastnosti celé vláknenné struktury. Snímání obrazu nanovláknenných struktur je možné pouze pomocí elektronového mikroskopu či mikroskopie atomárních sil (způsoby snímání obrazu byly uvedeny dříve).

Často používanou metodou určenou k získání informací o průměrech vláken ze snímků vláknenných vrstev je manuální metoda, při níž je uživatel nucen naměřit a zaznamenat velké množství průměrů vláken pomocí nějakého primitivního nástroje programu sloužícího k obrazové analýze, například digitalizovaného pravítka. Tato metodika je zdoluhavá, málo efektivní, obtížně reprodukovatelná a vzhledem k subjektivnímu hodnocení nepřesná. V následujícím textu budou popsány dvě metodiky zabývající se stanovením průměrů nanovláken pomocí obrazové analýzy. Metodiky se liší zejména programem, ve kterém byly získány informace o průměrech vláken, postup byl zpracován nejdříve v programu MATLAB, poté v programu ImageJ.

Stanovení průměrů nanovláken v obou programech bylo zjištěno na základě monochromatických snímků PCL nanovláknenných vrstev lišících se koncentrací zvláknovaného polymeru pořízených skenovací elektronovou mikroskopií. Na snímcích o velikosti 1024x1024 pixelů uvedených na obr. 77 je ukázka vrstev 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20 % PCL (d), určených ke stanovení průměrů nanovláken.

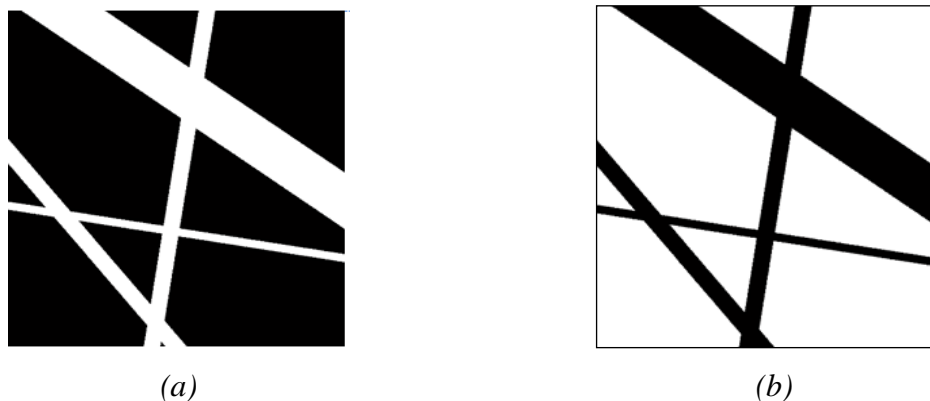


Obr. 77 Monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20% PCL (d).

4.8.1 Stanovení průměrů nanovláken v programu MATLAB

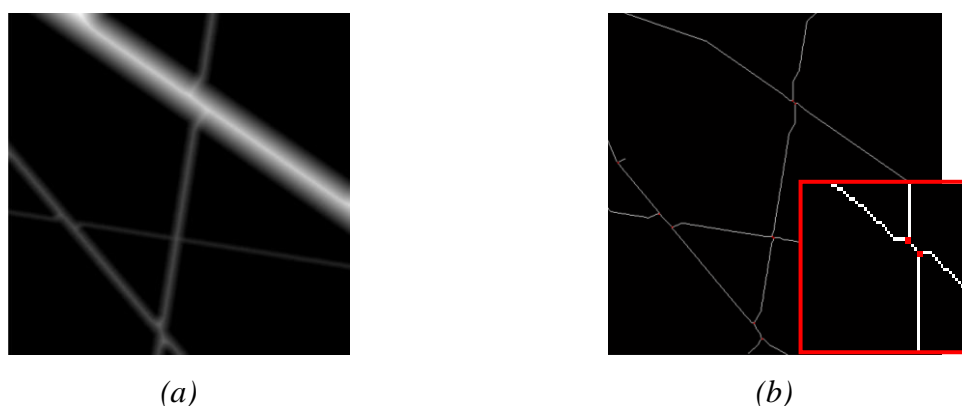
Jak bylo zmíněno dříve, stanovení průměru nanovláken aplikací manuální metody není příliš efektivní. Z tohoto důvodu jsou pro stanovení průměrů vláken v prostředí programu MATLAB hledány jiné, automatické, či poloautomatické způsoby. V této práci bylo nalezení průměrů vláken inspirováno studií [3], zabývající se stanovením průměrů vláken v netkaných textiliích.

V prostředí programu MATLAB byl algoritmus vedoucí ke zjištění průměrů vláken zkoušen na binárním obraze fiktivní nanovláknenné vrstvy. Testovaný obraz obr. 78(a) je o velikosti 500x500 pixelů, jsou na něm zobrazena 4 vlákna, nejširší vlákno má průměr 78 pixelů, dále se v obraze nacházejí dvě vlákna o průměru 22 pixelů a jedno vlákno o průměru 10 pixelů. Prvním krokem, který byl v prostředí programu MATLAB po načtení obrazu do pracovního prostředí aplikován bylo převedení na negativ obrazu. Negativ snímku je zobrazen na obr. 78(b).



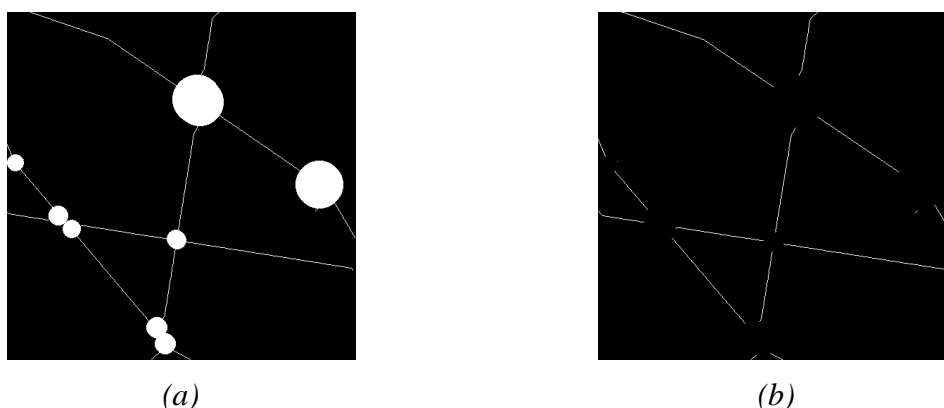
Obr. 78 Vstupní binární snímek vytvořené nanovlákněné vrstvy (a), negativ vstupního snímku (b).

V dalším kroku došlo pomocí implementované funkce v prostředí programu MATLAB k zaznamenání Euklidovských vzdáleností mezi všemi nulovými (obrazovými) pixely a jejich nejbližšími neulovými pixely (pixely nesoucí informaci 1, tvořící hranice vláken do matice. Grafické zobrazení matice s uvedenými vzdálenostmi je na obr. 79 (a), světlá místa uvnitř vláken značí nejvyšší hodnotu jasu tj. největší vzdálenost od hranice vlákna. Z důvodu klasifikace průměru, či poloměru vláken jsou důležité právě pixely vykazující nejvyšší jasové hodnoty, tyto pixely tvoří pomyslnou osu vláken, hodnota jasu je tedy jejich poloměrem. Získání osy vláken bylo v prostředí programu MATLAB provedeno pomocí morfologické operace ztenčení. Tato morfologická operace ponechá ve výsledném obraze pouze objektové pixely ležící uprostřed hranic objektu, tzn., došlo k zachování pixelů nesoucích informaci o poloměru nanovláken. Úseky ve kterých došlo k překřížení vláken, byly nalezeny a vyznačeny. Ztenčený obraz s vyznačenými body křížení vláken je uveden na obr. 79(b).



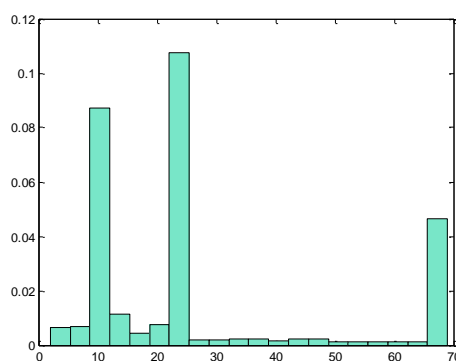
Obr. 79 Matice Euklidovských vzdáleností (a), ztenčený obraz s vyznačenými body křížení vláken (b).

Místa překřížení vláken mohou zkreslit konečné výsledky, naměřené Euklidovské vzdálenosti v těchto místech neodpovídají skutečným poloměrům nanovláken, proto budou v následujícím kroku tato místa odstraněna. K odstranění míst křížení vláken bylo použito kruhů o poloměru vláken vykreslených v detekovaných místech křížení, vytvořené kruhy byly odečteny od ztenčeného obrazu. Aplikace kruhů je uvedeny na obr. 80(a), obraz po odečtení kruhů je znázorněn na obr. 80(b).



Obr. 80 Aplikace kruhů ve skeletizovaném obraze (a), obraz po odstranění překřížených míst (b).

Výstupem metody je histogram distribuce průměrů vláken uvedený na obrázku obr. 81. Průměry vláken byly získány vynásobením získané osy vláken konstantou o hodnotě 2. Z histogramu je jasné patrné, že byly detekovány tři průměry vláken a to průměr 10 pixelů, dále průměr pohybující se mezi 20 až 25 pixely a průměr okolo 70 pixelů. Dále byl stanoven průměr vláken v testované fiktivní vlákenné vrstvě o velikosti 26.96 pixelů se směrodatnou odchylkou 20.03 pixelů.



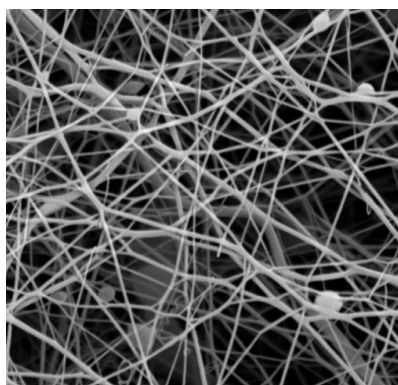
Obr. 81 Histogram distribuce průměrů vláken testovaného obrazu.

Uvedený postup vedoucí k detekci průměrů nanovláken ve vlákenné struktuře lze snadno interpretovat pomocí algoritmu uvedeného v následujícím textu. Zdrojový kód algoritmu je k dispozici v příloze 6.

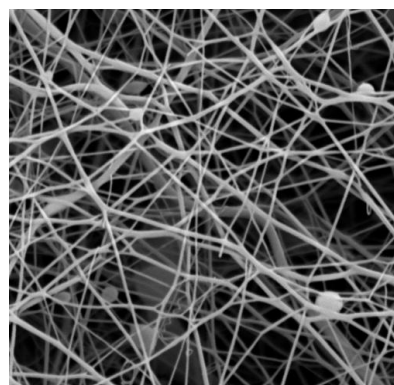
- Převeď vstupní binární obraz na negativ.
- Vypočti Euklidovskou vzdálenost mezi všemi nulovými pixely a jejich nejbližšími nenulovými pixely, vzdálenosti zapiš jako matici (`bwdist.m`).
- Proveď skeletonizaci obrazu ztenčením (`bwmorph.m`).
- Detekuj průsečíky skeletonizované struktury.
- Každému průsečíku vykresli kružnici o poloměru rovném průměru daného vlákna, tím odstraň místa křížení (`imcircle.m`).
- Sestroj histogram průměrů vláken.

Pro aplikaci uvedeného algoritmu na reálných snímcích je nutné do navržené metody extrakce průměrů nanovláken zahrnout vhodné techniky předzpracování a segmentace obrazu. Aplikace metody na reálném monochromatickém snímku nanovlákněné vrstvy 14% PCL bude uvedena v následujícím textu.

Po načtení a následném oříznutí monochromatického snímku 14% PCL obr. 82(a) byl z obrazu odstraněn šum použitím mediánového filtru. Obraz po redukci šumu mediánovým filtrem je uveden na obr. 82(b).



(a)

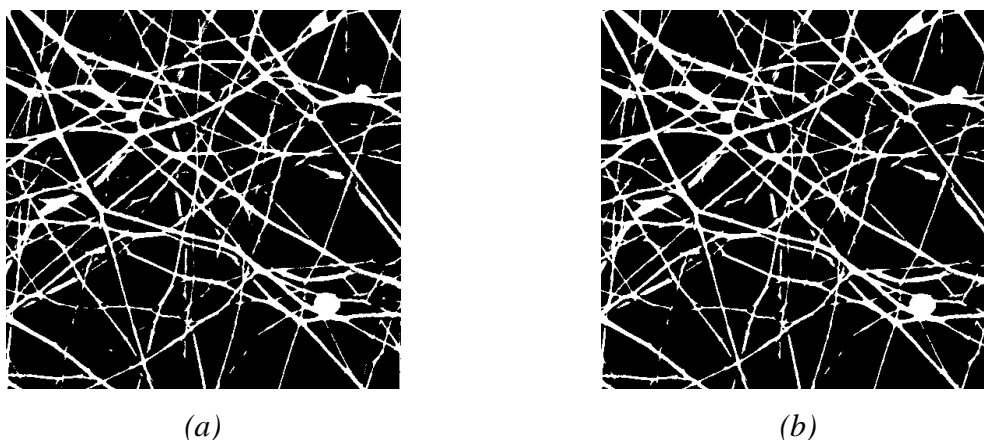


(b)

Obr. 82 Vstupní snímek 14% PCL (a), snímek po redukci šumu mediánovým filtrem (b).

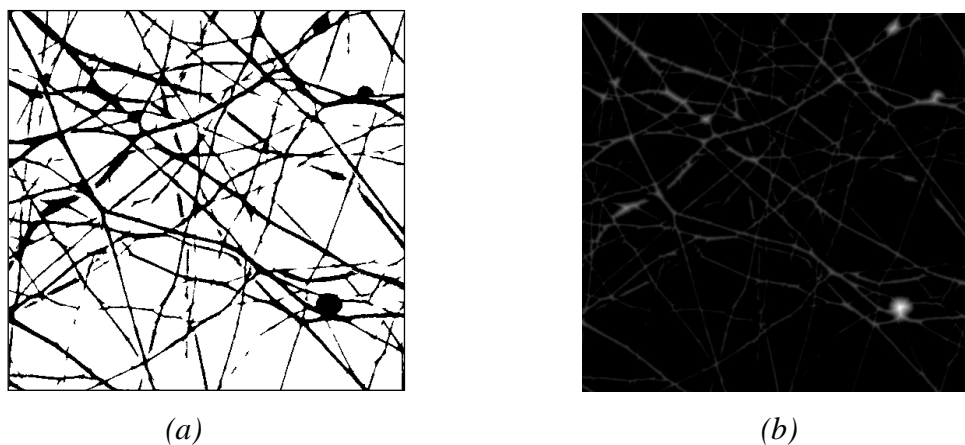
Dalším krokem byl převod monochromatického snímku na binární za použití prahové hodnoty o velikosti 145. Vzniklý binární obraz je uveden na obr. 83(a). Z tohoto

binárního obrazu byly odstraněny všechny objekty menší než 50 pixelů. Obraz bez malých objektů je uveden na obr. 83(b).



Obr. 83 Binární obraz 14% PCL (a), obraz po odstranění malých objektů (b).

Upravený binární obraz byl z důvodu principu dříve uvedené funkce určené k výpočtu Euklidovských vzdáleností převeden na negativ. Negativ binárního obrazu je uveden na obr. 84(a). Na obr. 84(b) je graficky znázorněna matice nalezených Euklidovských vzdáleností.



Obr. 84 Negativ obrazu (a), mapa Euklidovských vzdáleností (b).

Následující průběh obrazové analýzy je totožný s postupem aplikovaným na fiktivním snímku nanovlákněné vrstvy uvedené na obr. 78(a) na začátku této podkapitoly. Jediný rozdíl, který nesmíme opomenout je nutnost provést kalibraci výsledků vzhledem k tomu, že získané průměry jsou uváděné v pixelech. Kalibrační vztah

pro jednotlivé snímky zobrazené na obr. 77(a)-(d) je u všech vyhodnocovaných snímků stejný a je uveden v tabulce tab. 11.

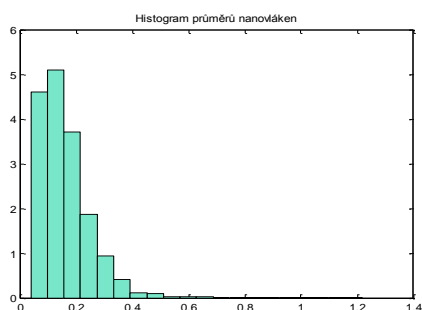
Tab. 11 Kalibrační vztahy jednotlivých snímků PCL v závislosti na koncentraci.

Koncentrace	Kalibrační vztah
14% PCL, 16% PCL, 18% PCL, 20% PCL	1 pixel = 0.0196 μm

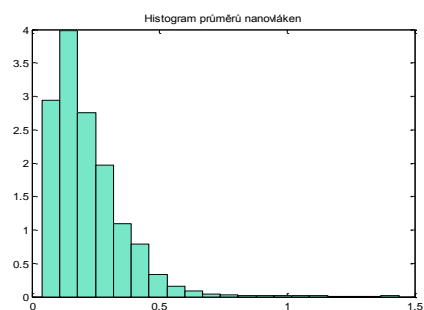
Výsledné průměry nanovlákných vrstev v závislosti na koncentraci zvlákněvaného polymeru PCL jsou uvedeny v tabulce tab. 12 a graficky znázorněny pomocí histogramů na obr. 84(a)-(d).

Tab. 12 výsledky stanovení průměrů vláken v závislosti na koncentraci polymeru.

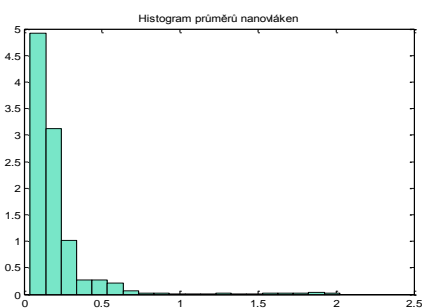
Koncentrace	Průměr [μm]	Std [μm]
14% PCL	0.16	0.09
16% PCL	0.22	0.15
18% PCL	0.19	0.22
20% PCL	0.65	0.70



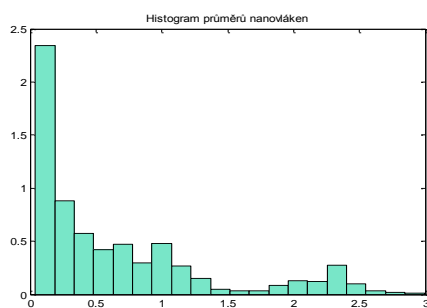
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 84 Histogram průměrů vláken 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c) a 20% PCL (d).

Představená metoda řešící problematiku stanovení průměrů nanovláken je na rozdíl od manuální metody snadno reprodukovatelná, efektivní a relativně přesná. Na základě zjištěných průměrů vláken v jednotlivých nanovlákných vrstvách lišících se koncentrací zvláknovaného PCL lze říci, že v případě koncentrací 14% PCL, 16% PCL a 18% PCL jsou průměry vláken přibližně stejné, na první pohled rozdílných hodnot dosahoval průměr vláken vrstvy 20% PCL. Z tohoto zjištění můžeme usoudit, že po dosažení určité hranice koncentrace jsou průměry nanovláken znatelně větší.

4.8.2 Stanovení průměrů nanovláken v programu ImageJ manuální metodou

Klasifikace průměrů vláken nanovlákných vrstev v prostředí programu ImageJ byla nejprve realizována prostřednictvím manuální metody. Princip manuální metody stanovení průměrů vláken v prostředí programu ImageJ je velmi jednoduchý, ale časově náročný. Posloupnost kroků vedoucí ke klasifikaci průměrů vláken je uvedena v následujícím textu.

Pro demonstraci metody stanovení průměrů nanovláken v prostředí programu ImageJ byl použit monochromatický snímek 14% PCL pořízený SEM mikroskopií. Vstupní snímek je uveden na obr. 85(a).

Process → Filters → Median

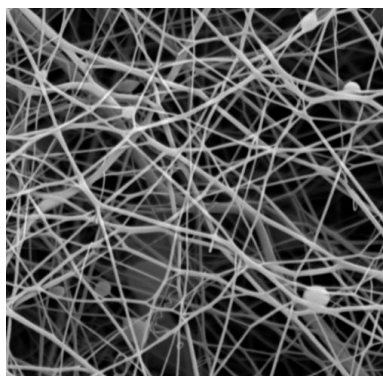
První úpravou, která byla na vstupním snímku provedena, bylo odstranění možného šumu pomocí mediánového filtru zvoleného v nabídce *Process → Filters → Median*. V dialogovém okně *Median* zobrazeném na obr. 85(b) má uživatel možnost zvolit velikost poloměru filtru, v našem případě byla zvolena velikost 1.5 pixelu, tzn. každý obrazový pixel je nahrazen mediánem úrovně šedi ze svého okolí o velikosti 3x3 pixely. Výsledný obraz vzniklý touto transformací je znázorněn na obr. 85(c).

Analyze → Set Scale

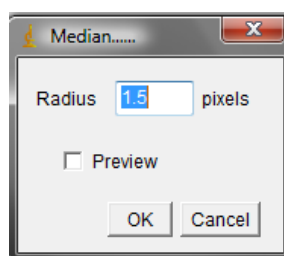
Nezbytným krokem potřebným ke stanovení výsledků měření v reálných jednotkách je kalibrace, která byla provedena prostřednictvím nástroje *Set Scale* v nabídce *Analyze*.

Image→ Adjust→ Threshold

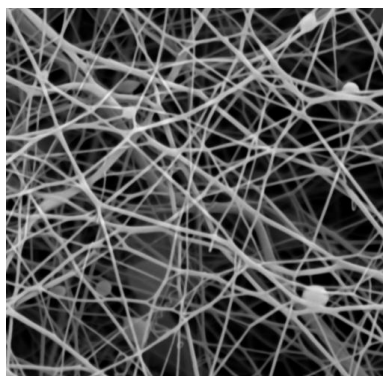
Transformace vstupního monochromatického obrazu na binární byla realizována prostřednictvím víceúrovňového prahování, hodnota prahu byla zvolena stejně jako v prostředí programu MATLAB, tj. 145 a byla nastavena ručně v dialogovém okně *Threshold* na základě histogramu úrovně šedi. Výsledný binární obraz je zobrazen na obr. 85(d).



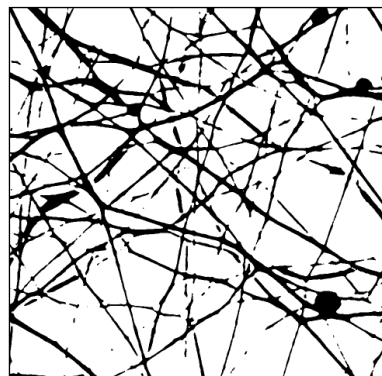
(a)



(b)



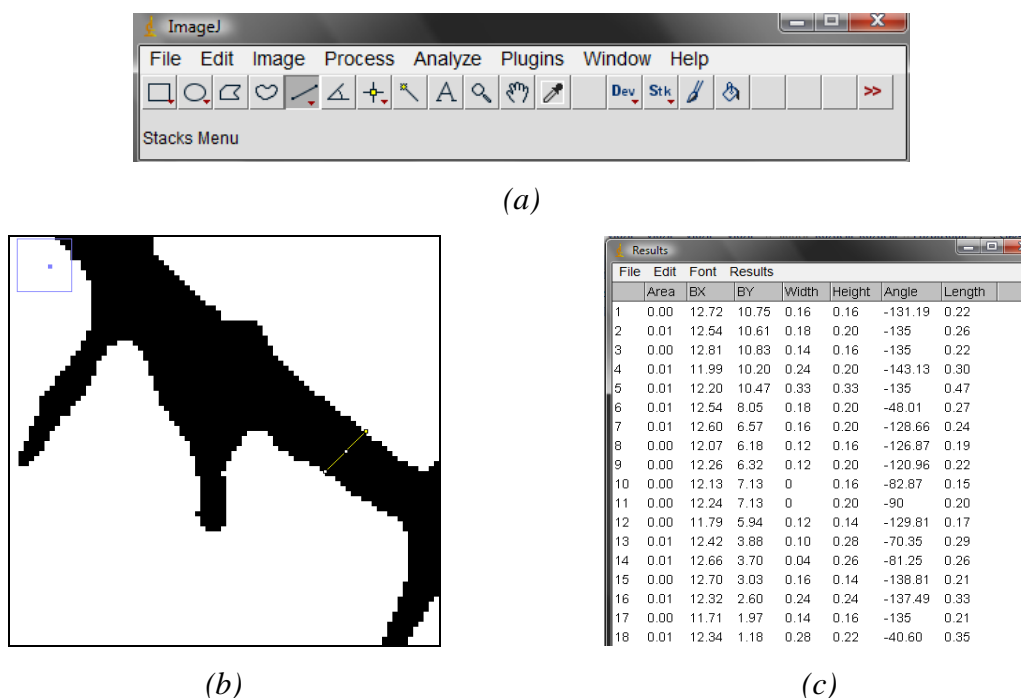
(c)



(d)

Obr. 85 Vstupní monochromatický snímek nanovláknenné vrstvy 14% PCL (a), dialogové okno Median (b), obraz po odstranění šumu (c), binární obraz (d).

Pomocí nástroje lupa nacházejícím se v hlavním Toolboxu obr. 86(a), bylo pro přesnější provedení měření průměrů nanovláken možné libovolně zvětšovat analyzovaný snímek. Měření průměrů probíhalo manuálně pomocí aplikace mnoha přímek, které byly vedeny kolmo od jedné ke druhé hraně vlákna. Měřicí přímka je v binárním obraze zobrazena žlutě na obr. 86(b). Zapsání naměřeného údaje do dialogového okna *Results* uvedeného na obr. 86(c) probíhá pomocí klávesové zkratky *Ctrl+M*. Lokace místa ve kterém probíhá měření je znázorněno schematicky na analyzovaném snímku uvedeném na obr. 86(b) vlevo nahoře.



Obr. 86 Uživatelské rozhraní programu ImageJ (a), zvětšený binární obraz se zachyceným snímáním průměru vlákna (b), dialogové okno Results (c).

Results → Distribution

V dialogovém okně *Results* ve stejnojmenné nabídce *Results* je pomocí nástroje *Distribution* možné ze získaných dat sestavit histogram.

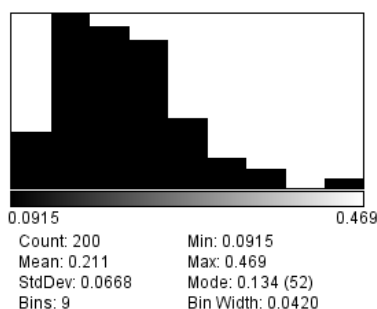
Results → Summarize

Dále je v dialogovém okně *Results* možné pomocí nástroje *Summarize* nacházejícího se v nabídce *Results* stanovit průměr a směrodatnou odchylku pro ručně zaznamenaná měření průměrů nanovláken.

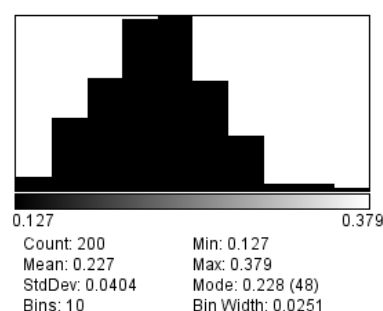
Aplikací výše uvedené metody stanovení průměrů nanovláken v prostředí programu ImageJ na sadě dříve zmíněných monochromatických snímků PCL nanovláčkových vrstev lišících se koncentrací zvlákněného roztoku uvedených na obr. 77(a)-(d), byly zjištěny následující průměry nanovláken zaznamenané v tab. 13. Průměry nanovláken v jednotlivých vláčkových vrstvách lišících se koncentrací PCL jsou graficky znázorněny pomocí histogramů uvedených na obr. 87(a)-(d).

Tab. 13 Průměr nanovláken v závislosti na koncentraci PCL

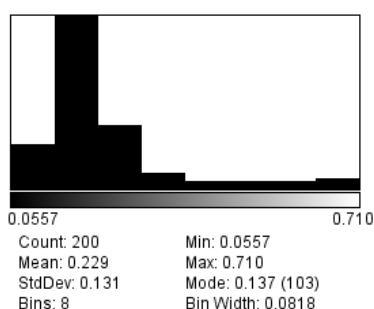
Koncentrace	Počet měření	Průměr [μm]	Std [μm]
14% PCL	200	0.21	0.07
16% PCL	200	0.23	0.04
18% PCL	200	0.23	0.13
20% PCL	200	0.63	0.35



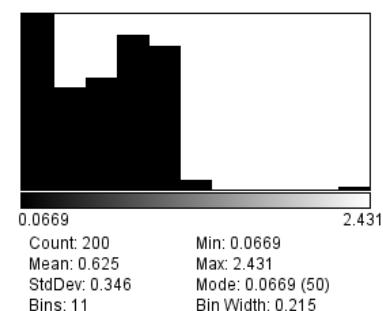
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 87 Histogram průměrů nanovláken vrstvy (a) 14% PCL, (b) 16% PCL, (c) 18% PCL a 20% PCL (d).

Manuální vyhodnocení průměrů nanovláken je v prostředí programu ImageJ zdlouhavým, časově a subjektivně náročným postupem. Nevýhodou je podstatně menší počet provedených měření než je tomu v prostředí programu MATLAB, kdy byl průměr vláken změřen pro každý objektový pixel tvořící osu vlákna. Vzhledem k absenci velkého počtu měření a subjektivnímu přístupu hodnocení průměrů nanovláken jsou dosažené výsledky v obou použitých metodikách srovnatelné. V následující kapitole je navržen automatizovaný postup vyhodnocení průměrů nanovláken.

4.8.3 Stanovení průměrů nanovláken v ImageJ

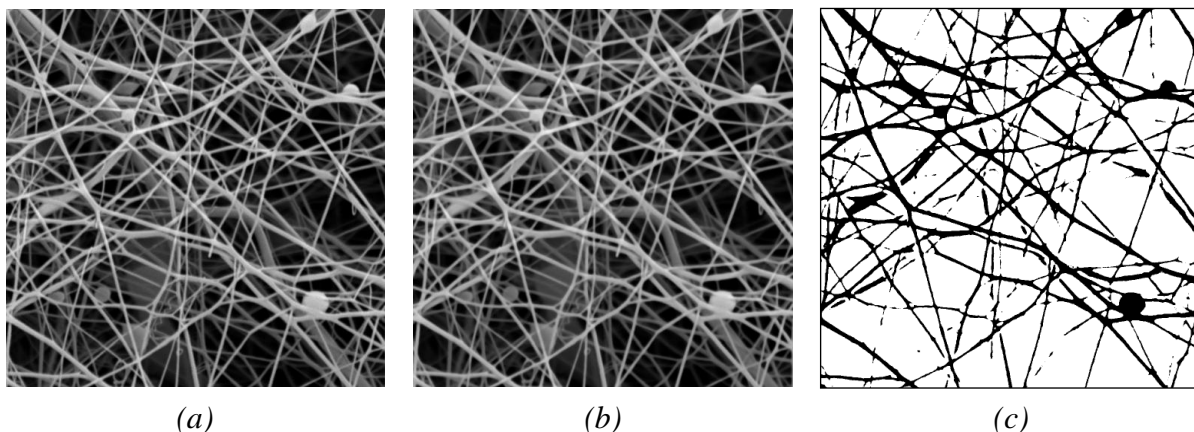
Vzhledem k náročnosti manuální metodiky stanovení průměrů nanovláken vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách je snaha o její zjednodušení. V následující navržené posloupnosti kroků v programu ImageJ vedoucí k vyhodnocení průměru nanovláken jednotlivých nanovláknenných vrstev lišících se koncentrací zvlákněného polymeru byl napodoben postup metodiky aplikované v prostředí programu MATLAB vycházející ze stanovení Euklidovských vzdáleností obrazových pixelů a jejich nejbližších pixelů reprezentující pozadí. V následujícím textu jsou popsány jednotlivé kroky této metodiky navržené v prostředí programu ImageJ. Způsob průběhu navržené metody je stejně jako v předchozích dvou testovaných metodách aplikován na vstupním monochromatickém snímku 14% PCL.

Process → Filters → Median

Po načtení vstupního snímku 14% PCL nanovláknenné vrstvy a jeho následném ořezání pomocí nástroje *Crop* v nabídce *Image* došlo pomocí mediánového filtru o poloměru 1.5 pixelu nacházejícího se v nabídce *Filters* k redukci náhodného šumu. Vstupní monochromatický snímek 14% PCL je zobrazen na obr. 88(a), snímek po odstranění šumu je zobrazen na obr. 88(b).

Image → Adjust → Threshold

Stejně jako tomu bylo v prostředí programu MATLAB, i v programu ImageJ byl vstupní snímek nanovláknenné vrstvy převeden na binární za použití prahování. Prahování bylo realizováno pomocí nástroje *Threshold*, práh byl zvolen o velikosti 145. Transformovaný binární obraz nanovláknenné vrstvy je uveden na obr. 89(c).



Obr. 89 Vstupní monochromatický snímek 14% PCL (a), snímek po odstranění šumu (b), transformovaný binární snímek (c).

Image → Duplicate

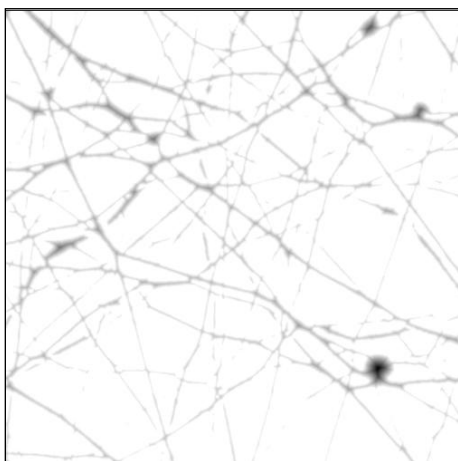
Pomocí nástroje *Duplicate* v nabídce *Image* byl z důvodu následujících operací vytvořen duplikát monochromatického snímku nanovlákněné vrstvy.

Process → Binary → Distance Map

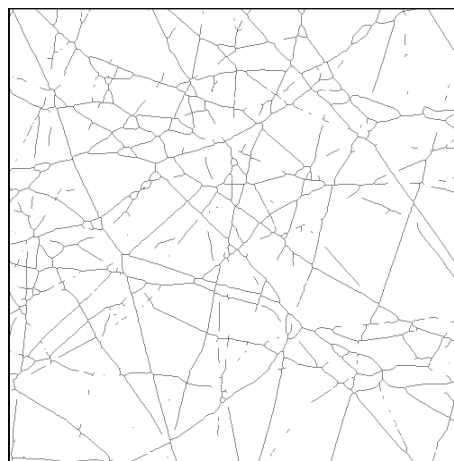
Pro jeden z dříve vytvořených binárních snímků byly pomocí nástroje vzdálenostní mapy (*Distance Map*) nacházející se v nabídce *Binary* hlavní nabídky *Process* stanoveny Euklidovské vzdálenosti. Vzdálenostní mapa zobrazuje prostřednictvím odstínů šedi Euklidovské vzdálenosti jednotlivých obrazových pixelů od jejich nejbližšího pixelu reprezentujícího pozadí tzv. hranového pixelu. Pixely zobrazené ve vzdálenostní mapě pomocí nejtmavší úrovně šedi považujeme za poloměr vláken. Mapa Euklidovských vzdáleností pro binární obraz nanovlákněné vrstvy je zobrazena na obr. 90(a).

Process → Binary → Skeletonize

U druhého binárního snímku nanovlákněné vrstvy byla provedena morfologická operace skeletonizace, která je obdobou morfologické operace ztenčení, provedené v prostředí programu MATLAB. Cílem skeletonizace je najít kostru neboli osu jednotlivých vláken, nalezení osy je realizováno pomocí postupného odstraňování objektových pixelů směrem od hranic ke středu objektu, dokud nezůstane pouze jediný objektový pixel. Skeletonizace byla provedena pomocí příkazu *Skeletonize* v nabídce *Binary*. Výsledná nalezená kostra vláken je zobrazena na obr. 90(b).



(a)

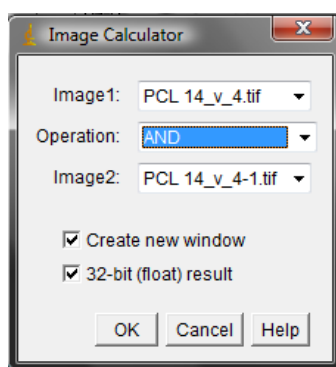


(b)

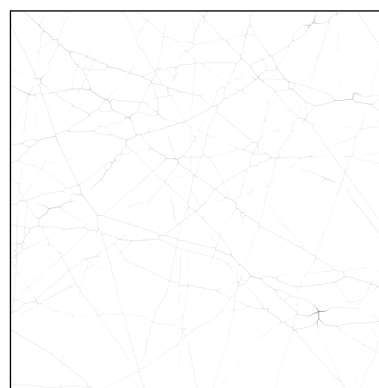
Obr. 90 Vzdálenostní mapa snímku 14% PCL (a), nalezená kostra vláken 14% PCL (b).

Process → Image Calculator → AND

Nástroj *Image Calculator* nacházející se v nabídce *Process* slouží k matematickým operacím mezi dvěma obrazy. Pomocí dialogového okna *Image Calculator* jsou vybrány ty obrazy, mezi kterými má dojít ke zvolené matematické operaci. Dialogové okno je uvedeno na obr. 91(a). V našem případě byl pro matematickou operaci zvolen obraz vzdálenostní mapy a obraz kostry vláken, dále byla zvolena operace AND sloužící k průniku dvou obrazů. Výstupem *Image Calculator* je nový obraz, ve kterém je ponechána pouze kostra vláken, která je tvořena pixely o intenzitě úrovně šedi získané ze vzdálenostní mapy. Zjednodušeně lze říci, že jsou ve vzniklém obraze zobrazeny pouze pixely nesoucí pomocí úrovně šedi informaci o poloměru vláken. Obraz po matematické operaci je zobrazen na obr. 91(b).



(a)

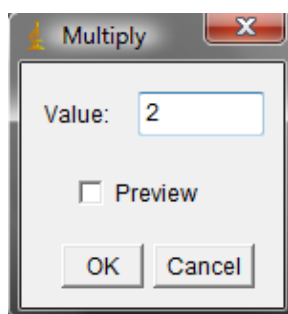


(b)

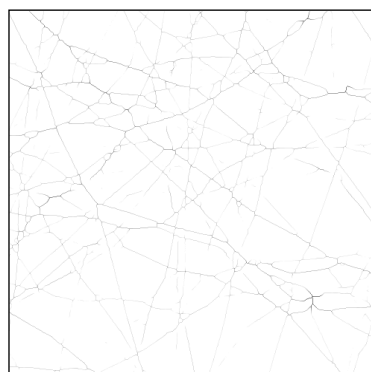
Obr. 91 Dialogové okno *Image Calculator* (a), výsledný obraz po matematické operaci (b).

Process → Math → Multiple

Pro získání informace o průměru vláken byl každý obrazový pixel o určité úrovni šedi nesoucí informaci o poloměru vynásoben proměnnou o hodnotě 2, proměnná 2 je odvozena ze vztahu poloměru a průměru. Tato transformace je možná pomocí funkce *Multiple* nástroje *Math* dostupného v nabídce *Process*. Funkce *Multiple* umožňuje vynásobení jednotlivých hodnot všech pixelů nacházejících se v obraze definovanou konstantou zadanou v dialogovém okně *Multiply*. Dialogové okno je zobrazeno na obr. 92(a), obraz se zdvojnásobenou hodnotou šedi jednotlivých pixelů tvořících kostru vláken je zobrazen na obr. 92(b). Takto připravený obraz je vhodným vstupem pro vyhodnocení průměrů vláken.



(a)

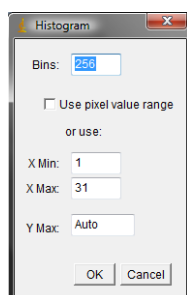


(b)

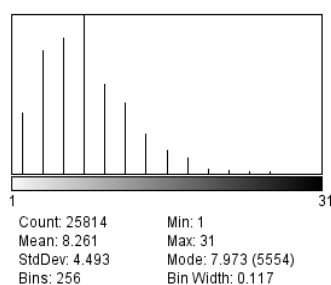
Obr. 92 Dialogové okno Multiply (a), obraz s dvojnásobnou hodnotou šedi pixelů tvořících kostru vláken (b).

Analyze → Histogram

Vyhodnocení průměrů nanovláken vyskytujících se v nanovlákných vrstvách je možné pomocí nástroje *Histogram* v nabídce *Analyze*. Výsledný histogram obsahuje kromě samotného grafického vyjádření četností výskytu jednotlivých průměrů vláken také údaje o průměrném průměru vláken, maximálním a minimálním průměru a také informaci o směrodatné odchylce. V dialogovém okně *Histogram* je možné nastavit potlačení zahrnutí vyhodnocení pixelů nesoucích určitou informaci. Dialogové okno Histogram je zobrazeno na obr. 93(a). V našem případě bylo potlačeno nastavením minimální hodnoty x -ové osy ($XMin=1$) vyhodnocení všech pixelů o intenzitě šedi rovno 0, tyto pixely představují pozadí. Výsledný histogram s uvedenými údaji o velikosti průměrů nanovláken ve zkoumaném snímku je uveden na obr. 93(b).



(a)



(b)

Obr. 93 Dialogové okno Histogram (a), výsledný histogram průměrů nanovláken (b).

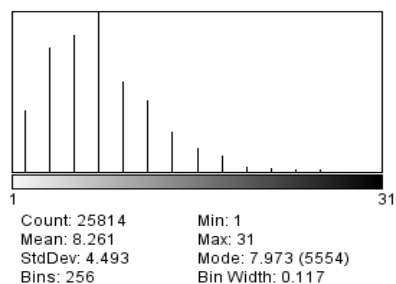
Informace o poloměrech vláken jsou uvedeny pomocí úrovně šedi, z tohoto důvodu je nutné provést kalibraci vedoucí k transformaci těchto informací do délkových jednotek. Kalibrace výsledků musela být provedena ručně vynásobením průměru vláken

stanoveného v pixelech kalibračním vztahem uvedeným dříve v tab. 11. Při snaze realizovat kalibraci prostřednictvím dříve uvedeného postupu popisujícího vynásobení pixelů v obraze konstantou (*Process* → *Math* → *Multiple*), nebyl histogram schopen zachytit úroveň šedi pixelů reprezentující průměry vláken, důvodem byla jejich zanedbatelná velikost.

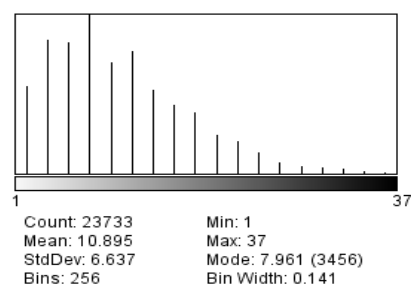
Dle uvedené metody byly stanoveny průměry vláken z monochromatických snímků PCL o koncentracích 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL uvedených dříve na obr. 77(a)-(d). Výsledky stanovení průměrů vláken z monochromatických snímků jednotlivých vrstev na základě uvedené metody aplikované v prostředí programu ImageJ jsou uvedeny v tab. 14. Distribuce průměrů nanovláken vyskytujících se v jednotlivých nanovláčkových vrstvách je uvedena na obr. 94 (a)-(d). Stručné shrnutí jednotlivých kroků aplikovaných v prostředí programu ImageJ je uvedeno v příloze 7.

Tab. 14 Průměr nanovláken v závislosti na koncentraci roztoku PCL

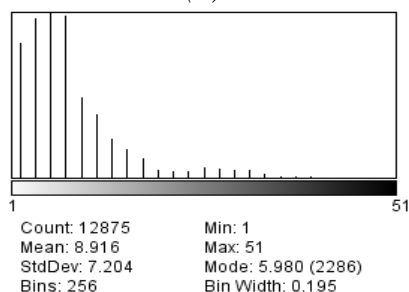
Koncentrace	Průměrná hodnota intenzity šedi pixelů	Převodní vztah	Průměr vláken [μm]	Std [μm]
14% PCL	8.261	0.0196	0.16	0.09
16% PCL	10.895	0.0196	0.21	0.13
18% PCL	8.916	0.0196	0.17	0.14
20% PCL	28.704	0.0196	0.56	0.41



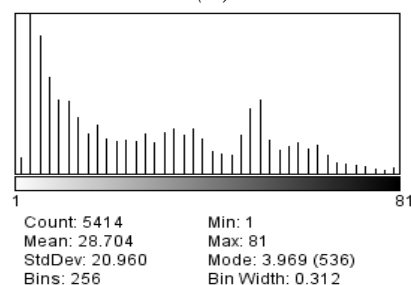
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 94 Distribuce velikosti průměrů nanovláken vyskytujících se v nanovláčkové vrstvě o koncentraci 14% PCL (a), 16% PCL (b), 18% PCL (c), 20% PCL (d).

Vyhodnocení průměrů nanovláken jednotlivých vrstev v prostředí programu ImageJ je snadným automatizovaným způsobem zjišťování tohoto parametru. Navržený postup je totožný s algoritmem stanoveným pro určení průměrů vláken, který byl uveden v programu MATLAB. Výsledné hodnoty průměrů nanovláken získané v prostředí programu ImageJ vycházející ze stanovení Euklidovských vzdáleností jsou shodné s výsledky dosaženými v programu MATLAB a výsledky zjištěnými manuální metodou aplikovanou v prostředí programu ImageJ. Navržená posloupnost kroků aplikovaných v prostředí programu ImageJ za účelem detekce průměrů nanovláken je uvedena v příloze 7.

4.9 Zhodnocení extrakce průměrů nanovláken

V práci byly demonstrovány dvě metody sloužící k detekci průměrů vláken PCL nanovlákených vrstev. První metoda vychází z nalezení Euklidovských vzdáleností objektových pixelů tvořících vlákna s jejich nejbližším nenulovým pixelem reprezentujícím pozadí, který se dotýká hrany objektu. Tato metoda byla aplikována v prostředí programu MATLAB a následně v prostředí programu ImageJ. Druhou metodou byla manuální metoda měření průměrů nanovláken, tato metoda byla aplikována pouze v programu ImageJ, manuální metoda je časově náročná a není objektivní. Na základě srovnání výsledných průměrů vláken jednotlivých PCL nanovlákených vrstev dosažených všemi aplikovanými metodami můžeme konstatovat, že jsou výsledky dosažené pomocí obou metod aplikovaných ve dvou prostředích totožné. Jako vhodnější způsob se jeví metoda založená na stanovení Euklidovských vzdáleností objektových pixelů od nejbližších pixelů pozadí, metoda je automatizovaná a je naměřeno velké množství hodnot průměrů, které lze dobře interpretovat.

5 Závěr

Cílem této práce bylo navrhnout objektivní algoritmy v prostředí programu MATLAB a stanovit posloupnost kroků v prostředí programu ImageJ vedoucích k určení základních kvantitativních charakteristik nanovláknenných vrstev. Vytvořené algoritmy byly testovány na sadě monochromatických snímků nanovláknenných vrstev získaných prostřednictvím skenovací elektronové mikroskopie. Nanovláknenné vrstvy byly vytvořeny elektrostatickým zvlákněním čtyř roztoků polykaprolaktonu o koncentracích 14% PCL, 16% PCL, 18% PCL a 20% PCL. Navržené algoritmy pro obě programová prostředí byly zaměřeny na stanovení parametrů pórů, charakteristiku defektů vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách, stanovení orientace a průměrů vláken.

Metodika zaměřená na stanovení základních parametrů mezivláknenných pórů, jakými je plocha a obvod pórů, byla v obou programovacích prostředích založena na segmentaci pórů z transformovaných vstupních snímků nanovláknenných vrstev na binární. Výsledky zjištěných základních parametrů pórů v závislosti na koncentraci zvlákněného roztoku byly v obou programových prostředích shodné.

Detekce základních charakteristik kulovitých defektů vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách byla v obou programových prostředích stanovena na základě dvou přístupů. První přístup byl založen na segmentaci vyskytujících se defektů od pozadí, kterým je chápána nanovláknenná vrstva, tato metodika nevykazovala přesné výsledky. Princip druhého přístupu stanovení základních charakteristik defektů v obou programových prostředích spočíval ve vzájemné korelaci vstupního monochromatického snímku nanovláknenné vrstvy a vytvořené šablony, která se vyznačuje parametry jako je tvar, velikost a intenzita šedi, totožnými s parametry hledaných defektů. Výstupem metody je korelovaný obraz, jehož transformací na binární obraz byly získány jednotlivé objekty, pro které bylo možné stanovit základní parametry. Na základě obou navržených přístupů pro detekci a stanovení základních charakteristik defektů vyskytujících se v nanovláknenných vrstvách lze i přes rozdílné výsledky dosažené aplikací metodik ve dvou programových prostředích konstatovat, že s rostoucí koncentrací zvlákněvaného roztoku klesá výskyt kulovitých defektů v nanovláknenných vrstvách.

Stanovení orientace nanovláken ve vláknenných vrstvách bylo v obou programových prostředích založeno na Fourierově transformaci. V prostředí programu MATLAB byla orientace nanovláken stanovena na základě určení směrových vektorů v mnoha podoknech,

kterými byl rozdělen vstupní monochromatický obraz. V prostředí programu ImageJ byla orientace vláken stanovena na základě použití dvou volně dostupných rozšiřovacích modulů. Prvním modulem byl plugin *OrientationJ*, druhým plugin *Directionality*. Výsledky stanovení orientace nanovláken v jednotlivých vrstvách se u metodik aplikovaných v obou programových prostředích shodovali.

Posledním parametrem, pro jehož extrakci byly v prostředí programu MATLAB i prostředí programu ImageJ navrženy objektivní algoritmy byl průměr nanovláken. Metodika stanovení průměru vychází v obou programových prostředích z nalezení Euklidovských vzdáleností objektových pixelů tj. pixelů reprezentujících vlákna s jejich nejbližším pixelem představujícím pozadí. Pro ověření přesnosti této metody byly v prostředí programu ImageJ změřeny průměry nanovláken v jednotlivých vrstvách také manuální metodou, stanovené výsledky průměrů vláken se shodovaly.

Všechny uvedené metodiky monitorující parametry nanovláknenných vrstev jsou efektivní, snadno interpretovatelné a lze jimi objektivně stanovit uvedené základní parametry nanovláknenných struktur. Výhodou metodik stanovení základních parametrů nanovláknenných struktur v prostředí programu ImageJ je jejich snadná uživatelská přístupnost, která není podmíněna znalostí tvorby složitých algoritmů jako je tomu v prostředí programu MATLAB a volná dostupnost bez nutnosti zakoupení licence. Nevýhodou metodik analyzujících snímky nanovláknenných vrstev v prostředí ImageJ je na rozdíl od metodik aplikovaných v programu MATLAB omezená interpretace výsledků zjištěných charakteristik.

Přínos práce je mimo identifikaci základních parametrů nanovláknenných struktur i ve snadné interpretaci algoritmů navržených v prostředí programu MATLAB prostřednictvím uživatelsky lépe pochopitelného a přístupného programu ImageJ. Navržené posloupné kroky v prostředí programu ImageJ mohou být vhodnou předlohou pro stanovení datových informací z obrazu bez nutnosti tvorby složitých algoritmů, jako je tomu v prostředí programu MATLAB. Navržená posloupnost kroků vedoucích ke stanovení parametrů nanovláknenných struktur najde uplatnění nejen v oblasti nanovláken, ale i oblasti tkáňového inženýrství, kde může sloužit k identifikaci a popisu strukturních parametrů buněk nebo buněčných systémů.

Literatura

- [1] RAMAKRISHNA, S., FUJIHARA, K., WEE-EONG, T., LIM, T.C., MA, Z. *An Introduce to Electrospining and Nanofibers*. World Scientific Publishing, 2005. ISBN 981-256-415-2.
- [2] ZIABARI, M., MOTTAGHITALAB, V., MCGOVERN, S.T., HAGHI A.K. A New Image Analysis Based Method for Measuring Electrospun Nanofiber Diameter. *Nanoscale Res Lett*, **2**, 597-600, August 2007.
- [3] POURDEYHIMI, B., DENT, R. Measuring Fiber Diameter Distribution in Nonwovens. *Textile Research Journal*, **69**, 233 (1999).
- [4] HANGHI, A.K. *Electrospining of Nanofibers in Textiles*. Apple Academic Press, USA 2012. ISBN 978-1-926895-04-8.
- [5] SAMBER, W., ZATLOUKAL, M., KIMMER, D. The use of Novel Digital Image Analysis Technique and Rheological Tools to charaktize Nanofiber Nonwovens. *Polymer Testing*, **29**, 82-94, 2010.
- [6] GHASEMI-MOBARAKEH, L., SEMNANI, D., MORSHED, M. A novel Method for Porosity measurement of various Surface Layers of Nanofibers materials using Image Analysis for Tissue engineering Applications. *Journal of Applied Polymer Science*, **106**(4), 2536-2542, 2007.
- [7] KULA, J., CHVOJKA, J., TUNÁK, M. Odhad Orientace vlákných Systémů. In: *REQUEST12, Reliability, Quality and Estimation*. Praha, Czech Republic, 2012.
- [8] Holota, R., Němeček, S. Recognition of Oriented Structures by 2D Fourier Transform. *Applied Electronics*. Plzeň, Czech Republic, 2002.
- [9] SUL, I.H., CHO, Y.J., PARK, C K. Automatic Volumetric Measurement of Nanofiber Webs using Metaball Approximation Based on Scanning Electron Microscope Images. *Textile Research Journal*, **80**(11), 995–1003, 2010.
- [10] FEI Introduces the Fibermetric System for Automated Measurement and Analysis of Micro- and Nano-Fibers. *Technology Business Journal*, **119**, April 2009.
- [11] KOŠŤÁKOVÁ, E. Úvod do elektrostatického Zvlákňování. Studijní text TUL [online]. [cit. 12. 11. 2012]. Dostupné z <https://moodle.fp.tul.cz/nano/pluginfile.php/2264/course/section/865/Predn%C3%A1ska%20%206_TNA_E.Kostakova%20KNT%2CFT%2CTUL.pdf>
- [12] RAMAKRISHNA, S., KOTAKI, M., HUANG, Z.M., ZHANG, Y.Z. A Review on Polymer

- Nanofibres of Electropinning and their Application in Nanocomposites. *Composites Scientis and Technology*, **63**, 2223-2253, 2003.
- [13] ŠVACHOVÁ, V. Zvlákňování Celulózu pomocí Elektropsinningu a Plazmochemické Modifikace Celulóзовých Nanovláken. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita 2012.
- [14] PETRÁŠ, D., KIMMER, D., SOUKUP, K., KLUSOŇ, P. Bezpečná Nanovlákná. *Chemický listy*, **103**, 1009 – 1016, 2009.
- [15] ULBRICH, P. Elektronová mikroskopie. Studijní text VŠCHT. [online]. [cit. 28. 1. 2013]. Dostupné z <http://www.vscht.cz/nmr/mol_model_bioinfo/lekce/mikroskopia.pdf>
- [16] NEBESÁŘOVÁ, J. Elektronová mikroskopie pro biologie. 2001. [online]. [cit. 1. 2. 2013]. Dostupné z <<http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/autori.html>>
- [17] PHAM-HUU, C., KELLER, N., EHRET, G., CHARBONNIERE, L.J., ZIESSEL, R., LEUDOUX, M.J. Carbon nanofibers supported Palladium Catalyst for liquid-phase reactions: An Active and Selective Catalyst for Hydrogenation of Cinnamaldehyde into Hydrocinnamaldehyde. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **170**, 155-163, 2001.
- [18] PARK SYSTEM CORP. Atomic Force Microscope Gallery. [online]. [cit. 12. 11. 2012]. Dostupné z <http://www.parkafm.com/AFM_gallery/AFM_gallery_view.php?id=91&word=Nano%20Materials>
- [19] The MathWorks, Inc. 1994-2013. [online]. [cit. 5. 1. 2013]. Dostupné z https://www.mathworks.com/products/matlab/trial.html?s_iid=main_trial_ML_tb>
- [20] FERREIRA, T., RASBAND, W. *ImageJ User Guide*. 2012. [online]. [cit. 15. 3. 2013]. Dostupné z <<http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>>
- [21] GONZALES, R.C., WOODS, R.E. *Digital Image Processing*. 2nd edition, Prentice-Hall, 2002.
- [22] LINKA, A., VOLF, P., KOŠEK, M. Zpracování Obrázku a jeho statistická Analýza. E-learning.tul.cz [online]. [cit. 2. 2. 2013]. Dostupné z <http://e-learning.tul.cz/cgi-bin/elearning/elearning.fcgi?ID_tema=67&stranka=publ_tema>
- [23] BAJZÍK, V., KALABISHKA, Y., LINKA, A., TUNÁK, M. Databáze Textur. [online]. [cit. 10. 12. 2012]. Dostupné z <<http://blade1.ft.tul.cz/~tyr/htdocs/elearning/Media/File/5/28/078.jpg>>

- [24] LUBASOVÁ, D., MARTINOVÁ, L. Mechanismus Tvorby porézních Nanovláken z Polykaprolaktonu připravených elektrostatickým Zvlákňováním. TUL. *Nanocon* 2009.
- [25] NECKÁŘ, B. Struktura a vlastnosti Textilíí. Studijní text TUL [online]. [cit. 15. 1. 2013]. Dostupné z <http://www.ktt.tul.cz/index.php?page=predmety&action=detail&id_predmet=30>
- [26] RATAJ, J., SAXL, I. Analysis of Planar Anisotropy by Means of Steiner Compact: A Simple Graphical Method. *Acta Stereologica*, **7**(2), 107 – 112, 1988.
- [27] LUKÁŠ, D., KOŠŤÁKOVÁ, E. Teorie netkaných Textilíí. Studijní text TUL [online]. [cit. 4. 4. 2013]. Dostupné z <<https://moodle.fp.tul.cz/nano/pluginfile.php/1912/course/section/792/CVI%C4%8CEN%C3%8D%20C.pdf>>
- [28] PHAM, Q.P., SHARMA, U., MIKOS, A.G. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue engineering*, 2005, **12**, 1197-1211.

Přílohy

V příloze 1 je uveden seznam a výklad zaimplementovaných funkcí programu MATLAB použitých v rámci řešení této diplomové práce. Zdrojové kódy k jednotlivým vytvořeným algoritmům vedoucích k monitorování jednotlivých parametrů nanovlákněných vrstev jsou uvedeny v příloze 2 až příloze 6. V příloze 7 jsou uvedeny navržené posloupné kroky vedoucí k detekci parametrů nanovlákněných pórů v programu ImageJ.

Obrazová sada pořízených snímků nanovlákněných vrstev o různých koncentracích, kódy vytvořených skriptů v prostředí programu MATLAB vedoucí k detekci zkoumaných parametrů a volně dostupné pluginy použité v prostředí programu ImageJ jsou přiloženy na CD.

Příloha 1

Seznam použitých funkcí v programu MATLAB

<code>im2bw.m</code>	Převádí obraz ve stupních šedi na binární obraz. Ve výstupním obraze BW jsou všechny obrazové body vstupního obrazu se svítivostí vyšší než úroveň nahrazeny hodnotou 1 (bílá), ostatní pixely hodnotou 0 (černá). Specifikujte úroveň v rozsahu [0,1]. Tento rozsah je dán na základě úrovně signálů obrazu v jeho třídě. Pokud není zadána úroveň, je automaticky počítáno s úrovní o hodnotě 0.5, která se nachází uprostřed mezi černou a bílou, bez ohledu na třídu.
<code>imhist.m</code>	Funkce zobrazí histogram pro daný snímek uvedený ve stupních šedi. Rozsah histogramu je určen typem obrazu. Pokud je vstupní obraz ve stupních šedi, je rozsah intervalů na x -ové ose roven 256, pokud by byl použit binární obraz, rozsah by byl 2 (bílá a černá).
<code>imtool.m</code>	Funkce zobrazí obraz ve stupních šedi.
<code>regionprops.m</code>	Funkce měří sadu vlastností pro každou označenou oblast matice L . Měřené vlastnosti jsou uvedeny v pixelech.
<code>bwlabel.m</code>	<p>Výstupem funkce je matice L, o stejné velikosti jako vstupní obraz, která obsahuje popisky připojených objektů vyskytujících se ve vstupním obraze. Díky volitelné proměnné, která může mít hodnotu 4 nebo 8, je stanoveno buď 4-sousedství nebo 8-sousedství připojených objektů. Pokud je argument proměnné vynechán, použije se automaticky hodnota 8.</p> <p>Prvky matice L jsou celočíselné hodnoty větší než nebo rovno 0. Pixely označené 0 reprezentují pozadí. Obrazové body označené indexem 1 tvoří jeden objekt, pixely označené indexem 2 tvoří druhý objekt, a tak dále.</p>
<code>medfilt2.m</code>	Pomocí této funkce je realizována mediánová filtrace obrazu. Jedná se o nelineární operaci často používanou při zpracování obrazu pro snížení šumu typu "sůl a pepř". Každý pixel vstupního obrazu je nahrazen mediánem ze svého okolí o velikosti např. 3x3 pixely.
<code>bwareaopen.m</code>	Vyvolání funkce odstraní z binárního obrazu všechny připojené komponenty (objekty), které mají méně pixelů, než je minimální velikost objektů zadaná v argumentu. Tato operace je známá jako otevření oblasti. Připojení objektů lze přesněji definovat pomocí sousedství.

<code>imclearborder.m</code>	Funkce potlačuje struktury, které jsou lehčí než jejich okolí, a které jsou připojeny k obrazové hranici. Vstupní obraz může být ve stupních šedi nebo binární. Výchozí konektivita je 8 pro dva rozměry, 26 pro tři rozměry.
<code>imerode.m</code>	Funkce vyvolává erozi obrazu, tzn., narušuje obraz ve stupních šedé nebo binární obraz použitím je strukturního elementu. Strukturní element je objekt nebo pole prvků strukturovaných objektů vrácených funkcí <code>strel</code> . Funkce provádí binární erozi, ale také erozi ve stupních šedi.
<code>strel.m</code>	Funkce vytváří morfologický strukturní prvek – element určitého tvaru a velikosti. Element má definovaný střed uprostřed matice udávající jeho velikost. Mezi možné tvary, které lze vytvořit patří např. diamant, koule a disk.
<code>imfill.m</code>	Funkce vyplní díry ve vstupním binárním obraze. Díra je označení pro sadu bodů pozadí, díra je vyplněna tím, že dojde k vyplnění pozadí od okraje obrazu.
<code>padarray.m</code>	Funkce slouží k doplnění pole, které může být chápáno například jako strukturní prvek nulovými pixely. V argumentu funkce je zadán vektor nezáporných celých čísel, který určuje, jaké množství pixelů přidat a rozměr, po které je přidat.
<code>imfilter.m</code>	Funkce slouží k filtrování vícerozměrných obrazů použitím definovaného filtru.
<code>fspecial.m</code>	Funkce slouží k vytvoření dvourozměrného filtru, který je vhodnou formou pro použití spolu s <code>imfilter</code> . Mezi typy používaných filtrů patří například gaussian, average a Laplacian.
<code>dftcorr.m</code>	Vytvořený m-file provede korelaci obrazu s vyhledávací tabulkou.
<code>bwmorph.m</code>	Prostřednictvím této funkce je možné provést řadu morfologických operací v binárním obraze, jako je například vyplnění děr, uzavření a otevření obrazu.
<code>imadjust.m</code>	Funkce mapuje hodnoty intenzity obrazu ve stupních šedi a nahrazuje je novými hodnotami, 1% dat je nasyceno nízkou a vysokou intenzitou vstupního obrazu. Tím se zvyšuje kontrast výstupního obrazu.

<code>imclose.m</code>	Funkce vyvolá morfologické uzavření obrazu, který je buď ve stupních šedi, nebo binární. Po morfologické operaci dilatace následuje eroze za použití stejného strukturního prvku.
<code>fft2.m</code>	2D Fourierova Transformace.
<code>fftshift.m</code>	Funkce uspořádá výstupy Fourierovy transformace, nulovou frekvenční složka je umístěna do středu pole – spektra.
<code>bwdist.m</code>	Funkce vypočítá Euklidovskou vzdálenost pomocí transformovaného vstupního binárního obrazu. Pro každý pixel ve vstupním obraze, je přiřazeno číslo, které je vzdáleností mezi tímto pixelem a jeho nejbližšího nenulového pixelu.

Příloha 2

Metodika stanovení parametrů pórů

```
clc, close, clear all

%% NAČTENÍ OBRAZU %%
I=imread('NÁZEV SNÍMKU.FORMÁT');
I=I(1:512,:);
figure, imshow(I);

%% REDUKCE ŠUMU %%
I = medfilt2(I)
figure, imshow(I);

%% PRAHOVÁNÍ %%
T1=130
I=im2bw(I,T1/255);

%% SADA MORFOLOGICKÝCH OPERACÍ %%
BW = bwareaopen(I,30);
figure, imshow (BW);
In=abs(1-BW);
figure, imshow (In);
Ic=imclearborder(In);
figure,imshow(Ic);
Ik= bwareaopen(Ic,30);
figure,imshow(Ik);

%% STANOVENÍ PÓROZITY %%
E=size(Ik) % výpočet počtu řádků a sloupků
Sc=E(1)*E(2) %celková plocha obrázku
S=sum(Ik,1); % součet všech černých bitů přes všechny řádky
SB=sum(S,2) % součet všech černých bitů přes všechny sloupky - plocha vláken
Ac=S+SB %zjistění plochy pórů
P=Ac/Sc % stanovení porózity

%% VYTVOŘENÍ MATICE %%
IL=bwlabel(Ik);

%% VYKRESLENÍ OBVODŮ PÓRŮ DO VSTUPNÍHO OBRAZU %%
RGB = label2rgb(IL);
figure, imshow(RGB);
se=[0 1 0;1 1 1;0 1 0];
Ie=imerode(BW,se);
R=BW-Ie;
figure,imshow(R);
[r s]=find(R==1);
for i=1:length(r)
    Irgb(r(i),s(i),1)=255;
    Irgb(r(i),s(i),2)=0;
    Irgb(r(i),s(i),3)=0;
end
figure,imshow(Irgb);

%% STANOVENÍ VLASTNOSTÍ PÓRŮ%%
A=regionprops(IL,'Area');
B=[A.Area]*(KALIBRAČNÍ_VZTAH^2);
Bh=B;
Bs=sum(B)
Bb=mean(B)
b=std(B)

P=regionprops(IL,'Perimeter');
C=[P.Perimeter]*(KALIBRAČNÍ_VZTAH);
```

```
Ch=C;
c=std(C)
Cb=mean(C)
Cs=sum(C)

%% VYKRESLENÍ HISTOGRAMŮ %%
figure,
hist(Bh,20),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram plochy pórů','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Plocha [ $\mu\text{m}^2$ '],'FontSize', 18)
ylabel('Četnost','FontSize', 18)

figure,
hist(Ch,20),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram obvodů pórů','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Obvod [ $\mu\text{m}$ '],'FontSize', 18)
ylabel('Četnost','FontSize', 18)
```

Příloha 3

Metodika stanovení parametrů defektů založená na korelaci

```
clear,clc,close all

%% NAČTENÍ OBRAZU %%
D=imread('NÁZEV SNÍMKU.FORMÁT');
D=D(1:500,500:1);
Irgb=D;Irgb(:, :, 2)=D;Irgb(:, :, 3)=D;
figure,imshow(D, [])

%% VYTVOŘENÍ SROVNÁVACÍ ŠABLONY REPREZENTUJÍCÍ HLEDANÉ DEFEKTY %%
R=6;
se=strel('disk',R,0);
sel=struct2cell(se);
dotaz=sel{1};
dotaz=padarray(dotaz, [3 3], 0);
dotaz=double(dotaz)*170;
vel=(length(dotaz)-1)/2;
figure,imshow(dotaz,[0 255])

%% KORELACE OBRAZU A ŠABLONY %%
g=dftcorr(D,dotaz);
g=gscale(g);
figure,imshow(g, [])

%% PRAHOVÁNÍ KORELOVANÉHO OBRAZU %%
P=im2bw(g,0.6);
figure,imshow(P)

%% SADA MORFOLOGICKÝCH OPERACÍ %%
P=bwareaopen(P,30);
figure,imshow(P)
P=imclearborder(P);
figure,imshow(P)

%% VYTVOŘENÍ MATICE %%
IL=bwlabel(P);
RGB = label2rgb(IL);
figure, imshow(RGB);

%% VYKRESLENÍ NALEZENÝCH DEFEKTŮ VE VSTUPNÍM OBRAZE %%
Ig=imerode(P,ones(3));
IE=P-Ig;
figure,imshow(IE)
[r s]=find(IE==1);
for i=1:length(r)
    Irgb(r(i)+vel,s(i)+vel,1)=255;
    Irgb(r(i)+vel,s(i)+vel,2)=0;
    Irgb(r(i)+vel,s(i)+vel,3)=0;
end
Irgb=Irgb(1:500,1:500,:);
figure,imshow(Irgb)

%% STANOVENÍ VLASTNOSTÍ DEFEKTŮ%%
A=regionprops(IL,'Area');
B=[A.Area]* KALIBRAČNÍ_VZTAH^2;
Bh=B;
Bs=sum(B)
Bb=mean(B)
b=std(B)

P=regionprops(IL,'Perimeter');
C=[P.Perimeter]* KALIBRAČNÍ_VZTAH;
```

```
Ch=C;
Cs=sum(C)
Cb=mean(C)
c=std(C)

%% VYKRESLENÍ HISTOGRAMŮ %%
figure,
hist(Bh,10),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram ploch defektů 16% PCL','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Plocha [ $\mu\text{m}^2$ '],'FontSize', 18)
ylabel('Četnost','FontSize', 18)

figure,
hist(Ch,10),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram obvodů defektů 16% PCL','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Obvod [ $\mu\text{m}$ '],'FontSize', 18)
ylabel('Četnost','FontSize', 18)
```

Příloha 4

Metodika stanovení parametrů defektů založená na segmentaci

```
lear,clc,close all

%% NAČTENÍ OBRAZU %%
D=imread('NÁZEV SNÍMKU.FORMÁT');
D1=D(1:512,:);%oriznuti
figure,imshow(D1);

D2=D1;
D2(:, :,2)=D1;
D2(:, :,3)=D1;
D3=D2;
figure,imshow(D3);

%% PRAHOVÁNÍ ZA POUŽITÍ INTERVALU JAKO PRAHU %%
T1=155;
T2=185;
D1=D1>T1 & D1<= T2;
figure,imshow(D1);

%% SADA MORFOLOGICKÝCH OPERACÍ %%
D1=bwareaopen(D1,100);
figure,imshow(D1);
D1=imclearborder(D1);
figure,imshow(D1);
D1=imfill(D1,'holes');
IM2=imclose(D1,ones(3));
A1=[0 1 0;1 1 1;0 1 0];
A2=ones(3);
IM1=imclose(D1,A1);
IM1=bwareaopen(IM1,200);
figure,imshow(IM1);

%% VYTVOŘENÍ MATICE %%
IL=bwlabel(IM1);

%% VYKRESLENÍ NALEZENÝCH DEFEKTŮ VE VSTUPNÍM OBRAZE %%
RGB = label2rgb(IL);
figure, imshow(RGB);
BW=bwmorph(IM1,'remove');
[rrr sss]=find(BW==1);
for i=1:length(rrr)
    D3(rrr(i),sss(i),1)=255;
    D3(rrr(i),sss(i),2)=0;
    D3(rrr(i),sss(i),3)=0;
end
figure,imshow(D3);

%% STANOVENÍ VLASTNOSTÍ DEFEKTŮ%%
A=regionprops(IL,'Area');
B=( [A.Area]*KALIBRAČNÍ_VZTAH^2);
Bh=B;
Bs=sum(B)
Bm=mean(B)

P=regionprops(IL,'Perimeter');
C=( [P.Perimeter]*KALIBRAČNÍ_VZTAH);
Ch=C;
Cs=sum(C)
Cm=mean(C)
```

```
%% VYKRESLENÍ HISTOGRAMŮ %%
figure,
hist(Bh,10),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram ploch defektů','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Plocha [ $\mu\text{m}^2$ '],'FontSize', 18)
axis([0 1400 0 6])

figure,
hist(Ch,10),
h = findobj(gca,'Type','patch');
set(h,'FaceColor',[120/255 230/255 200/255],'EdgeColor','k')
title('Histogram obvodů defektů ','FontSize', 20,'FontWeight','bold' )
xlabel('Obvod [ $\mu\text{m}$ '],'FontSize', 18)
ylabel('Četnost','FontSize', 18)
axis([0 260 0 5])
```

Příloha 5

Metodika stanovení orientace nanovláken

```
clear,clc,close all

%% NAČTENÍ OBRAZU %%
I=imread('NÁZEV SNÍMKU.FORMÁT');
if size(I,3)>1
    I=rgb2gray(I);
end
vyrez=500;
odr=1;
dor=odr+vyrez;
ods=1;
dos=ods+vyrez;
I=I(odr:dor,ods:dos);
I=imadjust(I);
I1=I;
figure,imshow(I,[]);

%% STANOVENÍ MINIMÁLNÍHO POMĚRU HLAVNÍ A VEDLEJŠÍ OSY ELIPSY %%
podil=2;

%% POLÁRNÍ DIAGRAM %%
podil=1;%podil=1 => vykreslen polární diagram

%% VELIKOST PODOKNA %%
okno=20;
[r s]=size(I);
pole=[];
obr=zeros(size(I)-1);
obr1=zeros(size(I)-1);
cit=0;
for i=1:okno:r-okno
    for j=1:okno:s-okno

        cit=cit+1;
        x=i;y=j;
        I1=I(x:x+okno-1,y:y+okno-1);

        %% FOURIEROVA TRANSFORMACE %%
        dft = fft2(im2double(I1));
        sdft = fftshift(dft);
        spectrum = abs(sdft);
        pspectrum = log(1+abs(sdft));
        pspectrum=imrotate(pspectrum,90);
        IBW=pspectrum>(max(pspectrum(:))-max(pspectrum(:))*0.5);
        IBW1=double(IBW);

        %% STANOVENÍ PARAMETRŮ OS ELIPSY POPISUJÍCÍ TVAR FREKVENČNÍ OBLASTI %%
        STATS=regionprops(double(IBW),'All');
        DC=floor([(size(IBW, 1)+1)/2, (size(IBW, 2)+1)/2]);
        cx=DC(1);cy=DC(2);
        minor=STATS.MinorAxisLength;
        major=STATS.MajorAxisLength;

        %% VYVOLÁNÍ FUNKCE POLÁRNÍHO DIAGRAMU %%
        [t rose]=anisotropyFT(I1,1,podil);
        t=rad2deg(t);
        pom=find(rose==max(rose));

        %% VYKRESLENÍ SMĚROVÝCH VEKTORŮ JEDNOTLIVÝCH PODOKEN %%
        if t(pom(1))>=0 && t(pom(1))<45
            v=okno/2;
```

```
        u=round(okno*tan(deg2rad(t(pom(1)))))/2;
    elseif t(pom(1))==45
        u=okno/2;
        v=okno/2;
    elseif t(pom(1))>45 && t(pom(1))<=90
        v=round(okno/tan(deg2rad(t(pom(1)))))/2;
        u=okno/2;
    elseif t(pom(1))==-45
        u=-okno/2;
        v=okno/2;
    elseif t(pom(1))>-45 && t(pom(1))<0
        u=round(okno*tan(deg2rad(t(pom(1)))))/2;
        v=okno/2;
    elseif t(pom(1))>=-90 && t(pom(1))<-45
        v=-round(okno/tan(deg2rad(t(pom(1)))))/2;
        u=-okno/2;
    end

    if round(STATS.Orientation)>=0 && round(STATS.Orientation)<45
        v1=okno/2;
        u1=round(okno*tan(deg2rad(round(STATS.Orientation))))/2;
    elseif round(STATS.Orientation)==45
        u1=okno/2;
        v1=okno/2;
    elseif round(STATS.Orientation)>45 && round(STATS.Orientation)<=90
        v1=round(okno/tan(deg2rad(round(STATS.Orientation))))/2;
        u1=okno/2;
    elseif round(STATS.Orientation)==-45
        u1=-okno/2;
        v1=okno/2;
    elseif round(STATS.Orientation)>-45 && round(STATS.Orientation)<0
        u1=round(okno*tan(deg2rad(round(STATS.Orientation))))/2;
        v1=okno/2;
    elseif round(STATS.Orientation)>=-90 && round(STATS.Orientation)<-45
        v1=-round(okno/tan(deg2rad(round(STATS.Orientation))))/2;
        u1=-okno/2;
    end

    pole=[pole; cit x y t(pom(1)) max(rose) j+okno/2 i+okno/2 u v
(STATS.Orientation) u1 v1 (STATS.MajorAxisLength)/(STATS.MinorAxisLength)];
    obr(x:x+okno-1,y:y+okno-1)=t(pom(1))*ones(okno);
    if (STATS.MajorAxisLength)/(STATS.MinorAxisLength)<podil
        obr1(x:x+okno-1,y:y+okno-1)=zeros(okno);
    else obr1(x:x+okno-1,y:y+okno-1)=STATS.Orientation;
    end

end

end

figure,imshow(obr1,[-90 90])
hold on
for k=1:cit
    if pole(k,13)>=podil
        quiver(pole(k,6),pole(k,7),pole(k,12),-pole(k,11),'r','LineWidth',2),hold
on
        quiver(pole(k,6),pole(k,7),-pole(k,12),pole(k,11),'r','LineWidth',2),hold
on
    end
end
colorbar('FontSize',16)
hold off

%% VYKRESLENÍ SMĚROVÝCH VEKTORŮ VE VSTUPNÍM OBRAZE %%
I=I(1:end-1,1:end-1);
figure,imshow(I,[])
```



```
hold on
hh1=[];
for k=1:cit
    if pole(k,13)>=podil
        quiver(pole(k,6),pole(k,7),pole(k,12),-
pole(k,11),'r','LineWidth',2,'MarkerSize',26),hold on
        quiver(pole(k,6),pole(k,7),-
pole(k,12),pole(k,11),'r','LineWidth',2,'MarkerSize',26),hold on
        hh1=[hh1; pole(k,10)];
    end
end
hold off

%% VYKRESLENÍ HISTOGRAMU A JÁDROVÉHO ODHADU HUSTOTY %%
fs=16;
hh=pole(find(pole(:,10)~=0),10);
figure,[ni c vyska]=histogram(hh,45);axis([-90 90 0
max(vyska)+0.1*max(vyska)]),title('Histogram a jádrový odhad hustoty distribuce
směrů','FontSize',fs)
xlabel('úhel [deg]','FontSize',fs)
set(gca,'XTick',-80:20:80)
hold on
[f,xi] = ksdensity(hh,'npoints',500);
plot(xi,f,'Color',[240/255 20/255 0],'LineWidth',3)
```

Příloha 6

Metodika stanovení průměrů nanovláken

```
clear,clc,close all

%% NAČTENÍ VSTUPNÍHO OBRAZU %%
f=imread('NÁZEV SNÍMKU.FORMÁT');
figure, imshow(f);
f=f(1:1024,:);
figure, imshow(f);
%% REDUKCE ŠUMU %%
f=medfilt2(f);

%% PRAHOVÁNÍ %%
T1=145
f=im2bw(f,T1/255);
figure, imshow(f);

%% PŘEVOD NA NEGATIV %%
I=~f;
figure,imshow(I);

%% VYPOČTE EUKLIDOVSKÉ VZDÁLENOSTI %%
[D,L] = bwdist(I);
figure,imshow(D,[])

%% MORFOLOGICKÁ OPERACE ZTENČENÍ %%
S=bwmorph(f,'thin',inf);
figure,imshow(S)

%% NALEZENÍ A OZNAČENÍ MÍST KŘÍŽENÍ VLÁKEN %%
p=find_skel_intersection(S);
for i=1:length(p)
    rectangle('Position',[p(i,1) p(i,2) 1 1],'FaceColor','r','Edgecolor','r')
end
p=fliplr(p);

%% VYKRESLENÍ KRUHU SE STŘEDEM V MÍSTĚ KŘÍŽENÍ VLÁKEN O POLOMĚRU ROVNÉM
POLOMĚRU VLÁKNA%%
for j=1:length(p)
    p(j,3)=ceil(D(p(j,1),p(j,2)));
end
for k=1:length(p)
    warning off
    c=imcircle((p(k,3)*2)>0);
    [r s]=size(c);
    rr=abs(ceil(r)/2)>0;
    ss=abs(ceil(s)/2)>0;
    S=double(S);
    S(p(k,1)-rr:p(k,1)+rr-1,p(k,2)-ss:p(k,2)+ss-1)=S(p(k,1)-rr:p(k,1)+rr-
1,p(k,2)-ss:p(k,2)+ss-1)-c;
end
S=S>0;
figure,imshow(S,[])

%% STANOVENÍ PRŮMĚRŮ VLÁKEN %%
[idx]=find(S==1);
d=D(idx)*2*KALIBRAČNÍ_VZTAH;
figure,histogram(d,20);
mean(d)
std(d)
```

Příloha 7

Posloupnost kroků stanovení jednotlivých parametrů v programu ImageJ

Metodika navržená ke stanovení parametrů pórů

Analyze → Set Scale	Proveď kalibraci pixelů na reálné jednotky
Image → Crop	Vyřež vstupní obraz
Process → Noise → Despeckle	Odstraň šum mediánovým filtrem
Image → Adjust → Threshold	Transformuj vstupní obraz na binární prahováním
Process → Binary → Fill Holes	Vyplň díry morfologickou operací
Analyze → Set Measurements	Nastav parametry určené k vyhodnocení
Analyze → Analyze Particles	Analyzuj jednotlivé objekty
Results → Distribution	Zobraz distribuci naměřených parametrů
Analyze → Summarize	Stanov výsledky měření použitím statistických operací

Metodika stanovení parametrů defektů korelační metodou

Image → Crop	Vyřež vstupní obraz na požadovanou velikost
Plugins → Create Template	Vytvoř šablonu Proveď korelaci mezi vstupním obrazem a šablonou Proveď prahování korelované obrazu
Analyze → Set Scale	Proveď kalibraci pixelů na reálné jednotky
Analyze → Set Measurements	Nastav parametry určené k vyhodnocení
Analyze → Analyze Particles	Analyzuj jednotlivé objekty
Results → Distribution	Zobraz distribuci naměřených parametrů
Analyze → Summarize	Stanov výsledky měření použitím statistických operací

Metodika stanovení parametrů defektů segmentací

Analyze → Set Scale	Proveď kalibraci pixelů na reálné jednotky
Image → Crop	Vyřež vstupní obraz na požadovanou velikost
Image → Adjust → Threshold	Transformuj vstupní obraz na binární prahováním
Process → Binary → Fill Holes	Vyplň díry morfologickou operací
Process → Binary → Open	Otevři obraz
Analyze → Set Measurements	Nastav parametry určené k vyhodnocení
Analyze → Analyze Particles	Analyzuj jednotlivé objekty
Results → Distribution	Zobraz distribuci naměřených parametrů
Analyze → Summarize	Stanov výsledky měření použitím statistických operací

Metodika stanovení orientace vláken

Image → Crop	Vyřež vstupní obraz
Plugins → OrientationJ → Distribution	Automatizované stanovení orientace vláken

Metodika stanovení orientace vláken

Image → Crop	Vyřež vstupní obraz
Analyze → Directionality	Automatizované stanovení orientace vláken

Metodika stanovení průměrů vláken

Process → Filters → Median	Odstraň šum mediánovým filtrem
Image → Adjust → Threshold	Transformuj vstupní obraz na binární
Image → Duplicate	Vytvoř kopii binárního obrazu
Process → Binary → Distance Map	Vytvoř mapu Euklidovských vzdáleností vláken
Process → Binary → Skeletonize	Vytvoř skeleton (kostru) vláken
Process → Image Calculator → AND	Získej poloměry vláken prostřednictvím průniku dvou obrazů
Process → Math → Multiple	Vynásob obraz konstantou, získej průměr vláken
Analyze → Histogram	Interpretuj výsledky měření histogramem

